

**UNIVERSIDADE DE LISBOA**

**Faculdade de Farmácia**



**PRODUTOS DA PESCA CAPTURADOS NA COSTA  
PORTUGUESA:  
BENEFÍCIOS E PERIGOS ASSOCIADOS AO SEU CONSUMO**

**Cláudia Isabel Medeiros Afonso**

**DOUTORAMENTO EM FARMÁCIA**

(Bromatologia)

**2009**

**UNIVERSIDADE DE LISBOA**

**Faculdade de Farmácia**



**PRODUTOS DA PESCA CAPTURADOS NA COSTA  
PORTUGUESA:  
BENEFÍCIOS E PERIGOS ASSOCIADOS AO SEU CONSUMO**

**Dissertação orientada por:**

Doutora Maria Leonor Nunes

Professora Doutora Matilde Fonseca e Castro

**Cláudia Isabel Medeiros Afonso**

**DOUTORAMENTO EM FARMÁCIA**

(Bromatologia)

**2009**

*À minha Querida Filha e Marido*

## RESUMO

Portugal é o país da União Europeia com o consumo *per capita* mais elevado de produtos da pesca, cerca de 160 g/dia, sendo recomendado o seu consumo em todos os países pelos inúmeros benefícios nutricionais que apresentam. Todavia, associado aos benefícios há também preocupações quanto ao perigo de exposição do consumidor a substâncias poluentes que se podem acumular na parte edível, o que constitui um factor de risco para a saúde humana. O peixe-espada-preto (*Aphanopus carbo*), peixe-espada-branco (*Lepidopus caudatus*), tamboril (*Lophius piscatorius*), tamboril-sovaco-preto (*Lophius budegassa*), areeiro (*Lepidorhombus whiffiagonis*), areeiro-de-quatro-manchas (*Lepidorhombus boscii*), pescada-europeia (*Merluccius merluccius*) e raias (*Raja* spp), são espécies muito apreciadas e com interesse sócio-económico em Portugal. Estas apresentam uma grande longevidade, são carnívoras e habitam zonas que as podem predispor à exposição a factores poluentes. Desta forma, foi objectivo do presente trabalho estudar estas espécies sob o ponto de vista biológico, nutricional e toxicológico, elaborar informação nutricional que possa ser de interesse para o consumidor e simular a sua exposição não só aos aspectos benéficos como também aos perigos que possam advir do seu consumo.

Neste contexto, a composição química aproximada, o perfil de ácidos gordos, o teor de colesterol e de  $\alpha$ -tocoferol foram determinados no músculo das espécies estudadas. Foi também doseado o teor de alguns elementos essenciais (potássio, sódio, cloro, enxofre, magnésio, cálcio, zinco, cobre, ferro, manganês e selénio) e tóxicos (mercúrio total e orgânico, cádmio, chumbo e arsénio) no músculo de todas as espécies e no fígado do peixe-espada-preto e das duas espécies de tamboril visto este órgão poder ser consumido pela população portuguesa.

À excepção de alguns exemplares de pescada-europeia, o tamanho dos peixes analisado respeita as regras de comercialização. Observando globalmente todos os resultados obtidos, verificou-se que, de um modo geral, as espécies diferiam entre si e, por vezes, entre exemplares da mesma espécie, tendo estas diferenças sido atribuídas a diversos factores intrínsecos e extrínsecos. Os resultados obtidos demonstraram também que as espécies estudadas podem ser consideradas magras ou pouco gordas, possuem elevado teor em proteína, baixo valor energético e de colesterol, sendo, por isso, o seu consumo considerado benéfico. Com algumas excepções, os ácidos gordos predominantes eram os polinsaturados, tendo a família n-3 representado cerca de 80 % do seu total. Os parâmetros nutricionais determinados mostram que a fracção lipídica de todas as espécies apresenta uma boa qualidade. O teor de  $\alpha$ -tocoferol revelou-se baixo e muito variável no tecido muscular da maioria das espécies. O macro e microelemento essencial mais abundante no tecido muscular foi o potássio e o zinco, respectivamente. Foram verificadas diferenças significativas entre a concentração de alguns elementos no músculo e as existentes no fígado, no entanto, de um modo geral, o teor de microelementos foi mais elevado no fígado. As espécies estudadas podem ser consideradas uma boa fonte de selénio, contribuindo os restantes elementos para assegurar uma percentagem relevante das doses diárias recomendadas numa dieta equilibrada. A concentração de mercúrio variou consideravelmente entre espécies e o peixe-espada-preto destacou-se por ter apresentado os valores mais elevados. No tecido muscular, o mercúrio orgânico representou cerca de 90 % do total. No fígado esta percentagem foi diferente, dependendo da espécie de peixe. Os teores de cádmio e chumbo no músculo não ultrapassaram os limites legislados pela UE ou os PTWI recomendados pela FAO/WHO. Com algumas excepções, o fígado apresentou valores de cádmio e chumbo mais elevados que o músculo. No que respeita ao arsénio, as raias salientaram-se por exibirem os níveis médios mais elevados deste metaloide no músculo. Atendendo aos resultados médios obtidos para os elementos tóxicos e às simulações efectuadas, consumos frequentes de tamboril-sovaco-preto e das duas de peixe-espada e areeiros devem ser evitadas devido às concentrações de mercúrio, enquanto as raias devem ser consumidas parcimoniosamente devido ao teor de arsénio. O consumo de fígado do peixe-espada-preto não exceder as 60 g/dia se se considerar a concentração de selénio ou 120 g/semana se se considerar a concentração de cádmio.

**Palavras-chave:** peixe, composição química aproximada, perfil de ácidos gordos, colesterol,  $\alpha$ -tocoferol, macro e microelementos essenciais, elementos tóxicos (Hg, Cd, Pb, As)

## ABSTRACT

Within European countries, Portugal is the one presenting the highest *per capita* consumption of seafood, around 160 g/day, being recommended in all countries their consumption due to several nutritional benefits. Nevertheless, associated with benefits there are some concerns about the hazard of consumer exposition to pollutant that can be accumulated in the edible part of fish, and this can be considered as a risk factor for the human health. In Portugal, black scabbardfish (*Aphanopus carbo*), silver scabbardfish (*Lepidopus caudatus*), angler (*Lophius piscatorius*), black-bellied angler (*Lophius budegassa*), megrim (*Lepidorhombus whiffiagonis*), fourspotted megrim (*Lepidorhombus boscii*), European hake (*Merluccius merluccius*) and rays (*Raja spp*) are very appreciated, presenting a high socio-economic value. These species are considered long-lived, carnivorous existing in habitats that can predispose them to the accumulation of pollutants. Consequently, the main objective of this work was to study these species from a biological, nutritional and toxicological point of view, to structure nutritional information that can be relevant for consumers and to simulate the exposition effects not only regarding the benefits but also the hazards that can be related to their consumption.

In this context, the proximate composition, fatty acid profile, cholesterol and  $\alpha$ -tocopherol levels were determined in the muscle of all studied fish species. Additionally, the contents of some essential (potassium, sodium, chloride, sulphur, magnesium, calcium, zinc, copper, iron, manganese and selenium) and toxic elements (total and organic mercury, cadmium, lead and arsenic) were also determined in the muscle of all species and in the liver of black scabbardfish and angler species, taking into consideration the use of this tissue in the Portuguese diet, by some particular populations.

With the exception of European hake, the size of all studied species was within the commercial range. Regarding all the results, differences were observed among species and individuals from the same species, and these were attributed to intrinsic and extrinsic factors. The results also showed that the studied species are lean or with low fat, have high protein content, low cholesterol and energy levels, and for these reasons, their consumption is considered healthy. As a rule, polyunsaturated were the dominant group of the fatty acids profile and about 80 % of them belonged to the n-3 family. Other nutritional parameters revealed that the lipid fraction of the species is of good quality. The most abundant macro and microelements were, respectively, potassium and zinc. The results showed significant differences among the concentration of some elements in the muscle and liver; nevertheless, liver usually presented higher levels of microelements. The fish species can be considered a good source of selenium. Besides, the other elements can give a relevant contribution to the recommended daily intakes in an equilibrated diet. The mercury concentration varied considerably among species and the black scabbardfish had the highest level of this contaminant. Organic mercury represented about 90 % of total mercury found in the muscle. In liver, this percentage was different depending on the species. Cadmium and lead found in muscle were lower than the EU limits or the recommended PTWI by FAO/WHO. With some exceptions, the cadmium and lead liver contents were higher than those found in the muscle. Rays had the highest mean concentration of arsenic. Attending to mean results found for toxic elements in muscle and to the considered scenarios, usual consumptions of black-bellied angler and both scabbardfish and megrim species have to be avoided because of the mercury concentration and the rays consumption must be parsimoniously due to the levels of arsenic. The black scabbardfish liver consumption must not exceeded 60 g/day, taking into consideration the selenium content, or 120 g/week, due to the levels of cadmium.

**Kew-words:** fish, proximate composition, fatty acids profile, cholesterol,  $\alpha$ -tocopherol, essential macro and microelements, toxic elements (Hg, Cd, Pb, As)

## **AGRADECIMENTOS**

Ao finalizar este trabalho não posso deixar de expressar os meus sinceros agradecimentos a todos quantos, directa ou indirectamente, contribuíram para a sua realização. Em particular:

À Doutora Maria Leonor Nunes, evidencio o meu profundo agradecimento pela orientação cuidada e atenta de todas as fases deste trabalho, pelo empenho que demonstrou na reunião de todas as condições para a realização deste trabalho, esclarecimentos, críticas e sugestões, bem como a revisão cuidadosa efectuada a este texto. Agradeço também pela simpatia, disponibilidade, soluções para a resolução de inúmeros problemas, encorajamento, sem os quais a concretizar deste trabalho não teria sido possível. A minha sincera e profunda gratidão por tudo o que fez e continua a fazer por mim.

À Professora Doutora Matilde Fonseca e Castro, agradeço de um modo muito especial a orientação deste trabalho, não só através de esclarecimentos, críticas e sugestões, como ainda pela revisão cuidadosa efectuada a este texto. Agradeço igualmente pela disponibilidade, auxílio dado na resolução de inúmeros problemas, motivação, empenho, dedicação e simpatia que foram indispensáveis para a conclusão deste trabalho.

À Dra. Fernanda Martins, Dra. Helena Lourenço, Eng.<sup>a</sup> Cátia Pereira e Fernanda Queiroz pela vossa preciosa colaboração, cada uma da sua forma especial, apoio incondicional em todas as fases deste trabalho, simpatia mas acima de tudo pela vossa amizade e carinho. Muito obrigada por tudo minhas queridas Amigas.

À Doutora Narcisa Bandarra pelos preciosos ensinamentos no que respeita às técnicas de doseamento dos ácidos gordos, colesterol e vitamina E, bem como a disponibilidade para o esclarecimento de inúmeras dúvidas, apoio e extrema simpatia que sempre me concedeu.

À Professora Doutora Luísa Carvalho da Faculdade de Ciências de Lisboa pela preciosa colaboração no doseamento de alguns dos elementos estudados, atenção dispensada e amabilidade com que me recebeu bem como a toda a equipa do seu Laboratório.

Ao Eng.º Carlos Cardoso, agradeço a disponibilidade e ajuda dispensada, mas também a sua extrema simpatia.

À Dra. Patrícia, Dra. Bárbara e Júlia o meu muito obrigado pela vossa ajuda durante o decurso deste trabalho.

À Doutora Graça Pestana pela cedência da maioria das espécies utilizadas neste trabalho e à Doutora Ivone Figueiredo pela cedência de parte dos exemplares de peixe-espada-preto utilizados.

Aos colegas da Unidade de Recursos Marinhos e Sustentabilidade, nomeadamente à Dra. Susana Godinho, Dr. Rafael Duarte, Dr. Pedro Machado, Dra. Inês, Eduardo, Zé do Lago, Marçal e a todas as pessoas que participaram nos embarques pela colaboração dada na amostragem biológica e identificação das espécies e sexo.

Ao Eng. Irineu Batista pelos esclarecimentos e à Dra. Amparo pela ajuda na estatística.

À Eng. Susana Gonçalves, Fátima Augusto, Margarida Muro e a todos os colegas da Unidade de Valorização dos Produtos da Pesca e Aquicultura do INRB, I.P./L-IPIMAR pela forma simpática que diariamente me acolhem.

Ao INRB, I.P./L-IPIMAR por ter sido a instituição de acolhimento.

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa por ter aceite a minha candidatura a doutoramento.

Em memória do meu querido pai.

Aos meus queridos e amados manos, Alexandra e Nuno, sobrinhos, avó Bárbara e sogros pelo amor, amizade, carinho, apoio e união que sempre tivemos nos bons e maus momentos que passamos, Amo-vos Muito.

À minha querida e amada Mãe. A ela sou eternamente grata pelo constante e persistente apoio, carinho, confiança e sobretudo ao amor e à sua vida que me dedicou ao longo da minha existência. Obrigada por tudo...Amo-te Muito.

Por último, decerto os primeiros, quero agradecer à minha querida filha, Matilde, e ao meu querido marido, Paulo, o meu muito Obrigado pelo Amor, Amizade, Carinho dedicado, Companheirismo demonstrado e incentivos que me incutiram ao longo destes anos. AMO-VOS MUITO Meus Queridos.

**Abreviaturas**

AA – Ácido gordo araquidónico  
ADN – Ácido desoxirribonucleico  
AG – Ácido gordo  
AHA – American Heart Association  
AI – Ingestão adequada (Adequate intake)  
ALA – Ácido gordo  $\alpha$ -linolénico  
AQM – Areeiro-de-quatro-manchas  
ARE – Areeiro  
ARN – Ácido ribonucleico  
As<sub>Inorg</sub> – Arsénio inorgânico  
As<sub>T</sub> – Arsénio total  
BHT – Butil – hidroxitolueno  
DDE – Dose diária estimada  
DDR – Dose diária recomendada  
DHA – Ácido docosahexaenóico  
DRI – Ingestão alimentar de referência (Dietary reference intake)  
EAR – Necessidade média estimada (Estimated average requirements)  
ECL – Equivalent chain lenght  
EDFRX – Espectroscopia dispersiva por fluorescência de raios-X  
EPA – Ácido eicosapentaenóico  
FAO – Organização para a Alimentação e Agricultura (Food and Agriculture Organization of the United Nations)  
GC – Cromatografia gasosa  
GSH-Px – glutathione peroxidase  
HDL – Lipoproteínas de alta densidade  
Hg<sub>Inorg</sub> – Mercúrio inorgânico  
Hg<sub>Org</sub> – Mercúrio orgânico  
Hg<sub>T</sub> – Mercúrio total  
h/H – hipocolesterolémico/hipercolesterolémico  
HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência  
IA – Índice aterogenicidade  
INE – Instituto Nacional de Estatística  
INRB, I.P./L-IPIMAR – Instituto Nacional de Recursos Biológicos/IPIMAR  
IPAC – Instituto Português de Acreditação  
INSA – Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge  
IT – Índice de trombogenicidade  
JEFCA – Comité Perito em Aditivos Alimentares e Contaminantes (Expert Committee on Food Additives)  
LA – Ácido gordo linoleico  
LD – Limite de detecção  
LDL – Lipoproteínas de baixa densidade



Mono. – Monoinsaturados

MRC – Material de referência certificado

n-3 – Ácidos gordos polinsaturados da família n-3

n-6 – Ácidos gordos polinsaturados da família n-6

PE – Pescada-europeia

PEB – Peixe-espada-branco

PEP – Peixe-espada-preto

PCB – Bifenil policlorado e seus derivados

Poli. – Polinsaturados

PTWI – Ingestão semanal tolerável provisória (Provisional tolerable weekly intake)

RA – Raias

RDA – Ingestão alimentar recomendada (Recommended dietary allowances)

Sat. – Saturados

SNC – Sistema nervoso central

TA – Tamboril

TSP – Tamboril-sovaco-preto

UL – Nível máximo de ingestão tolerável (Tolerable upper intake level)

U-VPPA – Unidade de Valorização dos Produtos da Pesca e Aquicultura

Vit E – Vitamina E

WHO – Organização Mundial de Saúde (World Health Organization)

ZEE – Zona Económica Exclusiva

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Considerações gerais sobre sector das pescas em Portugal e a biologia das espécies estudadas.....</b>	<b>1</b>
1.1.1 Sector das pescas.....	1
1.1.2 Biologia das espécies estudadas.....	3
<b>1.2 Considerações sobre a importância do pescado na dieta alimentar.....</b>	<b>4</b>
<b>1.3 Composição química e valor nutricional do peixe.....</b>	<b>5</b>
1.3.1 Humidade.....	5
1.3.2 Proteína e outros compostos azotados.....	6
1.3.3 Hidratos de carbono.....	8
1.3.4 Lípidos totais.....	8
1.3.4.1 Ácidos gordos.....	10
1.3.4.2 Colesterol.....	14
1.3.5 Vitaminas.....	15
1.3.5.1 $\alpha$ -Tocoferol.....	16
1.3.6 Minerais.....	18
1.3.6.1 Elementos essenciais.....	23
1.3.6.1.1 Macroelementos essenciais.....	24
1.3.6.1.1.1 Potássio (K), sódio (Na) e cloro (Cl).....	24
1.3.6.1.1.2 Enxofre (S).....	25
1.3.6.1.1.3 Cálcio (Ca) e magnésio (Mg).....	25
1.3.6.1.2 Microelementos essenciais.....	27
1.3.6.1.2.1 Zinco (Zn).....	28
1.3.6.1.2.2 Cobre (Cu).....	29
1.3.6.1.2.3 Ferro (Fe).....	29
1.3.6.1.2.4 Manganês (Mn).....	31
1.3.6.1.2.5 Selénio (Se).....	32
1.3.6.2 Elementos tóxicos.....	34
1.3.6.2.1 Mercúrio (Hg).....	36
1.3.6.2.2 Cádmio (Cd).....	41
1.3.6.2.3 Chumbo (Pb).....	44
1.3.6.2.4 Arsénio (As).....	46
<b>1.4 Objectivos do trabalho.....</b>	<b>50</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>51</b>
<b>2.1 Material biológico.....</b>	<b>51</b>
<b>2.2 Métodos.....</b>	<b>52</b>
2.2.1 Composição química aproximada.....	52
2.2.1.1 Humidade.....	52
2.2.1.1.1 Resumo do processo.....	53
2.2.1.1.2 Equipamento e utensílios.....	53
2.2.1.1.3 Preparação da amostra.....	53

2.2.1.1.4 Técnica.....	53
2.2.1.1.5 Resultados.....	53
2.2.1.2 Proteína bruta.....	54
2.2.1.2.1 Resumo do processo.....	54
2.2.1.2.2 Reagentes e soluções.....	54
2.2.1.2.3 Aparelhos e utensílios.....	54
2.2.1.2.4 Preparação da amostra.....	54
2.2.1.2.5 Técnica.....	55
2.2.1.2.5.1 Determinação.....	55
2.2.1.2.5.2 Ensaio em branco.....	55
2.2.1.2.6 Resultados.....	55
2.2.1.2.6.1 Cálculo do teor de azoto total.....	55
2.2.1.2.6.2 Cálculo do teor de proteína bruta.....	55
2.2.1.3 Cinza total.....	56
2.2.1.3.1 Resumo do processo.....	56
2.2.1.3.2 Equipamentos e utensílios.....	56
2.2.1.3.3 Preparação da amostra.....	56
2.2.1.3.4 Técnica.....	56
2.2.1.3.5 Resultados.....	57
2.2.1.4 Gordura livre.....	57
2.2.1.4.1 Resumo do processo.....	57
2.2.1.4.2 Reagentes.....	57
2.2.1.4.3 Equipamentos e utensílios.....	57
2.2.1.4.4 Preparação da amostra.....	58
2.2.1.4.5 Técnica.....	58
2.2.1.4.6 Resultados.....	58
2.2.2 Perfil de ácidos gordos.....	58
2.2.2.1 Resumo do processo.....	59
2.2.2.2 Reagentes e soluções.....	59
2.2.2.3 Equipamentos e utensílios.....	59
2.2.2.4 Preparação da amostra.....	60
2.2.2.5 Técnica.....	60
2.2.2.5.1 Extracção.....	60
2.2.2.5.2 Análise cromatográfica.....	60
2.2.2.6 Resultados.....	61
2.2.3 Colesterol.....	61
2.2.3.1 Resumo do processo.....	61
2.2.3.2 Reagentes e soluções.....	62
2.2.3.3 Solução padrão.....	62
2.2.3.4 Equipamentos e utensílios.....	62
2.2.3.5 Preparação da amostra.....	63
2.2.3.6 Técnica.....	63
2.2.3.6.1 Extracção.....	63
2.2.3.6.2 Análise cromatográfica.....	64
2.2.3.7 Curva de calibração.....	64
2.2.3.8 Resultados.....	64
2.2.4 $\alpha$ -Tocoferol.....	64
2.2.4.1 Resumo do processo.....	64

2.2.4.2 Reagentes.....	64
2.2.4.3 Solução padrão.....	65
2.2.4.4 Aparelhos e utensílios.....	65
2.2.4.5 Preparação da amostra.....	66
2.2.4.6 Técnica.....	66
2.2.4.6.1 Extracção.....	66
2.2.4.6.2 Análise cromatográfica.....	67
2.2.4.7 Curva de calibração.....	67
2.2.4.8 Resultados.....	67
2.2.5 Doseamento dos elementos.....	67
2.2.5.1 Sódio, magnésio, cobre e manganês.....	67
2.2.5.1.1 Resumo do processo.....	67
2.2.5.1.2 Reagentes e soluções.....	68
2.2.5.1.3 Solução padrão.....	68
2.2.5.1.4 Equipamento e utensílios.....	68
2.2.5.1.5 Preparação da amostra.....	69
2.2.5.1.6 Processo analítico.....	69
2.2.5.1.6.1 Incineração da amostra.....	69
2.2.5.1.6.2 Doseamento.....	69
2.2.5.1.7 Ensaio em branco.....	70
2.2.5.1.8 Curva de calibração.....	70
2.2.5.1.9 Resultados.....	71
2.2.5.2 Potássio, cloro, enxofre, cálcio, zinco, ferro, selênio, cobre, manganês e arsénio por EDFRX.....	71
2.2.5.2.1 Resumo do processo.....	71
2.2.5.2.2 Equipamento e utensílios.....	71
2.2.5.2.3 Preparação da amostra.....	72
2.2.5.2.4 Processo analítico.....	73
2.2.5.2.4.1 Preparação das pastilhas.....	73
2.2.5.2.4.2 Análise por espectroscopia.....	73
2.2.5.2.5 Resultados.....	73
2.2.5.3 Mercúrio.....	74
2.2.5.3.1 Mercúrio total.....	74
2.2.5.3.1.1 Resumo do processo.....	74
2.2.5.3.1.2 Reagentes e soluções.....	74
2.2.5.3.1.3 Solução padrão.....	74
2.2.5.3.1.4 Equipamentos e utensílios.....	74
2.2.5.3.1.5 Preparação da Amostra.....	75
2.2.5.3.1.6 Técnica.....	75
2.2.5.3.1.7 Ensaio em branco .....	75
2.2.5.3.1.8 Curva de calibração.....	75
2.2.5.3.1.9 Resultados.....	75
2.2.5.3.2 Mercúrio Orgânico .....	76
2.2.5.3.2.1 Resumo do processo.....	76
2.2.5.3.2.2 Reagentes e soluções.....	76
2.2.5.3.2.3 Solução padrão.....	77
2.2.5.3.2.4 Equipamentos e utensílios.....	77
2.2.5.3.2.5 Preparação da Amostra.....	77
2.2.5.3.2.6 Técnica.....	77

2.2.5.3.2.7 Ensaio em branco.....	78
2.2.5.3.2.8 Curva de Calibração.....	78
2.2.5.3.2.9 Resultados.....	78
2.2.5.4 Cádmio e chumbo.....	79
2.2.5.4.1 Resumo do processo.....	79
2.2.5.4.2 Reagentes e soluções.....	79
2.2.5.4.3 Solução padrão.....	79
2.2.5.4.3.1 Solução padrão para o cádmio.....	79
2.2.5.4.3.2 Solução padrão para o chumbo.....	80
2.2.5.4.4 Equipamentos e utensílios.....	80
2.2.5.4.5 Preparação da Amostra.....	81
2.2.5.4.6 Técnica.....	81
2.2.5.4.6.1 Digestão.....	81
2.2.5.4.6.2 Diluição.....	81
2.2.5.4.6.3 Leitura em espectrofotômetro de absorção atômica por forno de grafite.....	81
2.2.5.4.7 Ensaio em branco.....	83
2.2.5.4.8 Curva de calibração.....	83
2.2.5.4.8.1 Curva de calibração para o cádmio.....	83
2.2.5.4.8.2 Curva de calibração para o chumbo.....	83
2.2.5.4.9 Resultados.....	83
<b>2.3 Validação das técnicas analíticas.....</b>	<b>83</b>
<b>2.4 Cálculo de parâmetros nutricionais.....</b>	<b>84</b>
2.4.1 Valor energético.....	84
2.4.2 - Índice Poli./Sat.....	84
2.4.3 – Índice n-3/n-6.....	84
2.4.4- Índice de Trombogenicidade (IT).....	84
2.4.5 - Índice de aterogenicidade (IA).....	85
2.4.6 Índice hipocolesterolémicos/hipercolesterolémicos (h/H).....	85
<b>2.5 Análise estatística.....</b>	<b>85</b>
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>86</b>
<b>3.1 Dados biométricos.....</b>	<b>86</b>
<b>3.2 Caracterização nutricional das espécies estudadas.....</b>	<b>89</b>
3.2.1 Composição química aproximada.....	89
3.2.2 Ácidos Gordos.....	94
3.2.3 Colesterol.....	108
3.2.4 $\alpha$ -Tocoferol.....	111
<b>3.3 Elementos essenciais.....</b>	<b>113</b>
3.3.1 Macroelementos essenciais.....	113
3.3.2 Microelementos essenciais.....	120
3.3.3 Elementos essenciais e os dados biométricos.....	128

---

3.3.4 Contribuição nutricional das espécies no que respeita ao teor de macro e microelementos.....	131
<b>3.4 Elementos tóxicos.....</b>	<b>135</b>
3.4.1 Mercúrio.....	135
3.4.1.1 Mercúrio total, orgânico e inorgânico.....	135
3.4.1.1.1 Mercúrio e os dados biométricos.....	142
3.4.1.1.2 Mercúrio e habitat/zona geográfica.....	143
3.4.1.1.3 Mercúrio e a alimentação do peixe.....	147
3.4.1.1.4 Mercúrio e a alimentação humana.....	148
3.4.1.1.5 - Mercúrio e valores legislados/recomendados.....	152
3.4.2 Cádmio e chumbo.....	154
3.4.3 Arsénio.....	162
3.4.4 Elementos tóxicos e o sexo.....	167
<b>3.5 Informação nutricional e toxicológica.....</b>	<b>168</b>
<b>4 CONCLUSÕES.....</b>	<b>176</b>
<b>5 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>179</b>
<b>Anexo I.....</b>	<b>204</b>
<b>Anexo II.....</b>	<b>212</b>
<b>Anexo III.....</b>	<b>215</b>

<b>Figura 1</b> – Consumo <i>per capita</i> dos produtos da pesca a nível mundial (adaptado de FAO, 2007).....	2
<b>Figura 2</b> – Capturas nominais de pescado (INE, 2008).....	3
<b>Figura 3</b> – Capturas nominais das espécies estudadas (INE, 2008).....	3
<b>Figura 4</b> – Representação esquemática da biossíntese dos ácidos gordos essenciais (baseado em Christie, 2008).....	12
<b>Figura 5</b> – Colesterol (adaptado de Tocher, 2003).....	14
<b>Figura 6</b> – a) Tocoferóis b) Tocotrienos (adaptado de Christie, 2008).....	16
<b>Figura 7</b> – Material biológico estudado.....	51
<b>Figura 8</b> – Cromatógrafo de fase gasosa (Varian, CP-3800).....	60
<b>Figura 9</b> – Cromatógrafo de fase gasosa (Varian, Star 3400 Cx).....	63
<b>Figura 10</b> – Cromatógrafo líquido de alta pressão (Jasco, PU-980).....	66
<b>Figura 11</b> – Espectrofotómetro de absorção atómica de chama (Varian Spectr AA 55B).....	69
<b>Figura 12</b> – a) Preparação da pastilha b) Diapositivo com a amostra, já em patilha c) Espectrómetro de fluorescência de raios-X.....	72
<b>Figura 13</b> – Analisador de mercúrio (AMA 254, Leco).....	75
<b>Figura 14</b> – a) Microondas (CEM, MARS 5) b) Espectrofotómetro de absorção atómica – forno de grafite (Varian, Spectr AA 220Z).....	81
<b>Figura 15</b> – Relação entre o comprimento e o peso de cada espécie estudada.....	87
<b>Figura 16</b> – Correlações significativas entre os teores de gordura e de humidade (%) do músculo do peixe-espada-preto e tamboril-sovaco-preto.....	91
<b>Figura 17</b> – Correlações significativas entre o teor de proteína (%) e humidade (%) do músculo do peixe-espada-branco, tamboril, tamboril-sovaco-preto, areeiro-de-quatro-manchas e pescada-europeia.....	92
<b>Figura 18</b> – Correlações significativas entre o teor de gordura (%) e o do ácido gordo DHA (%) nas espécies de peixe-espada.....	100
<b>Figura 19</b> – Teor de colesterol, expresso em mg/100g (média±desvio padrão), na parte edível das espécies estudadas.....	108
<b>Figura 20</b> – Correlações significativas entre o teor de colesterol (mg/100g) e os dados biométricos do peixe-espada-branco.....	109
<b>Figura 21</b> – Teor de mercúrio total, expresso em mg/kg (média±desvio padrão), determinado nos tecidos das espécies estudadas.....	136
<b>Figura 22</b> – Percentagem (%) de mercúrio orgânico (Hg <sub>Org</sub> ) e inorgânico (Hg <sub>Inorg</sub> ) determinado no músculo (M) e fígado (F) das espécies estudadas.....	139

<b>Figura 23</b> – Teor de cádmio, expresso em mg/kg (média±desvio padrão), determinado nos tecidos das espécies estudadas.....	155
<b>Figura 24</b> – Teor de chumbo, expresso em mg/kg (média±desvio padrão), determinado nos tecidos das espécies estudadas.....	156
<b>Figura 25</b> – Teor de arsénio, expresso em mg/kg (média±desvio padrão), determinado nos tecidos das espécies estudadas.....	163



<b>Tabela 1</b> – Condições de operação para o espectrofotómetro de absorção atómica de chama.....	70
<b>Tabela 2</b> – Curva de calibração para o sódio (Na), magnésio (Mg), cobre (Cu) e manganês (Mn).....	70
<b>Tabela 3</b> – Programa do microondas (6 ou mais vasos de digestão).....	81
<b>Tabela 4</b> – Parâmetros instrumentais para determinação de cádmio ( $\lambda=228,8$ ) por espectrofotometria de absorção atómica em forno de grafite.....	82
<b>Tabela 5</b> – Parâmetros instrumentais para determinação de chumbo ( $\lambda=217,0$ nm) por espectrofotometria de absorção atómica em forno de grafite.....	82
<b>Tabela 6</b> – Comprimento (cm), peso (g) e sexo das espécies estudadas.....	86
<b>Tabela 7</b> – Composição química aproximada e valor energético das espécies estudadas.....	89
<b>Tabela 8</b> – Resultado dos testes estatísticos efectuados para a comparação entre espécies (humidade, gordura, proteína e cinza).....	90
<b>Tabela 9</b> – Composição química de algumas espécies de peixe (INSA, 2006).....	93
<b>Tabela 10</b> – Perfil dos principais ácidos gordos (%) das espécies estudadas.....	95
<b>Tabela 11</b> – Resultado dos testes estatísticos efectuados para a comparação entre espécies (somatório dos ácidos gordos saturados, ácido gordo 16:0 e 18:0).....	96
<b>Tabela 12</b> – Resultado dos testes estatísticos efectuados para a comparação entre espécies (somatório dos ácidos gordos monoinsaturados, ácido gordo 18:1n-9, 20:1 e 22:1).....	97
<b>Tabela 13</b> – Resultado dos testes estatísticos efectuados para a comparação entre espécies (somatório dos ácidos gordos polinsaturados, ácido gordo 22:6n-3, 20:5n-3 e 20:4n-6).....	99
<b>Tabela 14</b> – Comparação dos principais ácidos gordos (mg/100g de peso húmido) obtidos no presente trabalho e referenciados na literatura.....	103
<b>Tabela 15</b> – Resultado dos testes estatísticos efectuados para a comparação entre espécies (somatório dos ácidos gordos saturados, monoinsaturados e polinsaturados e os ácidos gordos EPA e DHA).....	104
<b>Tabela 16</b> – Parâmetros nutricionais associados aos lípidos das espécies estudadas.....	105
<b>Tabela 17</b> – Resultado do teste estatístico efectuado para a comparação entre espécies (colesterol).....	109
<b>Tabela 18</b> – Teor de $\alpha$ -tocoferol nas espécies estudadas (mg/100g).....	111
<b>Tabela 19</b> – Resultado do teste estatístico efectuado para a comparação entre espécies ( $\alpha$ -tocoferol).....	112
<b>Tabela 20</b> – Teor de macroelementos, expresso em mg/kg, nas espécies estudadas.....	114

<b>Tabela 21</b> – Resultado dos testes estatísticos efectuados para a comparação entre espécies (teor de K, Na, Cl, S, Mg e Ca no músculo).....	115
<b>Tabela 22</b> – Teores de macroelementos (K, Na, Cl, S, Mg e Ca), expressos em mg/kg, referenciados na literatura.....	120
<b>Tabela 23</b> – Teor de microelementos, expresso em mg/kg, determinados nos tecidos das espécies estudadas.....	122
<b>Tabela 24</b> – Resultados dos testes estatísticos efectuados para a comparação entre espécies (teor de Zn, Fe, Se, Cu e Mn no músculo das espécies estudadas).....	123
<b>Tabela 25</b> – Teores de microelementos (Zn, Cu, Fe, Mn e Se), expressos em mg/kg, referenciados na literatura.....	128
<b>Tabela 26</b> – Correlações significativas entre os teores de macro e microelementos no músculo e fígado e os dados biométricos das espécies estudadas.....	130
<b>Tabela 27</b> – Contribuição nutricional das espécies de peixe-espada-preto e peixe-espada-branco em termos de macro e microelementos essenciais, para um adulto e através do consumo de uma refeição de 160 g de músculo.....	132
<b>Tabela 28</b> – Contribuição nutricional das espécies de tamboril e tamboril-sovaco-preto em termos de macro e microelementos essenciais, para um adulto e através do consumo de uma refeição de 160 g de músculo.....	133
<b>Tabela 29</b> – Contribuição nutricional das espécies de areeiro e areeiro-de-quatro-manchas em termos de macro e microelementos essenciais, para um adulto e através do consumo de uma refeição de 160 g de músculo.....	133
<b>Tabela 30</b> – Contribuição nutricional das espécies de pescada-europeia e raias em termos de macro e microelementos essenciais, para um adulto e através do consumo de uma refeição de 160 g de músculo.....	134
<b>Tabela 31</b> – Contribuição nutricional das espécies estudadas em termos de macro e microelementos essenciais, para um adulto e através do consumo de uma refeição de 60 g.....	134
<b>Tabela 32</b> – Resultado do teste estatístico efectuado para a comparação entre espécies (Hg total no músculo das espécies estudadas).....	137
<b>Tabela 33</b> – Teor de mercúrio orgânico e inorgânico, expresso em mg/kg, determinado nos tecidos das espécies estudadas.....	138
<b>Tabela 34</b> – Correlações significativas entre o teor de mercúrio total, orgânico e inorgânico no músculo e fígado e os dados biométricos das espécies estudadas.....	143
<b>Tabela 35</b> – Teores de mercúrio total, expresso em mg/kg, e orgânico, expresso em mg/kg e em percentagem (%), referenciados na literatura.....	146
<b>Tabela 36</b> – Razão molar entre o teor de selénio e mercúrio total (Se:Hg <sub>T</sub> ) no músculo e fígado das espécies estudadas.....	152

<b>Tabela 37</b> – Concentração média de mercúrio (total e orgânico) no músculo, expresso em mg/kg, e a dose diária estimada, expressa em µg/kg peso corporal, para um adulto de 60 kg e considerando um consumo diário de 160 g de peixe.....	154
<b>Tabela 38</b> – Resultado do teste estatístico efectuado para a comparação entre espécies (cádmio no músculo das espécies estudadas).....	155
<b>Tabela 39</b> – Resultado do teste estatístico efectuado para a comparação entre espécies (chumbo no músculo das espécies estudadas).....	157
<b>Tabela 40</b> – Correlações significativas entre os teores cádmio e chumbo e os dados biométricos das espécies estudadas.....	158
<b>Tabela 41</b> – Teores de cádmio e chumbo, expressos em mg/kg, referenciados na literatura.....	160
<b>Tabela 42</b> – Concentração de cádmio e chumbo média no músculo, expresso em mg/kg, e a dose diária estimada, expressa em µg/kg peso corporal, para um adulto de 60 kg, considerando um consumo diário de 160 g de peixe.....	161
<b>Tabela 43</b> – Resultado do teste estatístico efectuado para a comparação entre espécies (As no músculo das espécies estudadas).....	163
<b>Tabela 44</b> – Teores de arsénio, expressos em mg/kg, referenciados na literatura...	166
<b>Tabela 45</b> – Concentração média de arsénio total ( $As_T$ ) e inorgânico ( $As_{Inorg}$ ) no músculo, expresso em mg/kg, e a dose diária estimada, expressa em µg/kg peso corporal, para um adulto de 60 kg e considerando um consumo de 160 g de peixe.....	167

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Considerações gerais sobre sector das pescas em Portugal e a biologia das espécies estudadas

### 1.1.1 Sector das pescas

Com uma zona económica exclusiva de cerca de 1700000 Km<sup>2</sup> e uma linha de costa de 2830 km, a pesca e o consumo de pescado em Portugal revestem-se de uma enorme importância sócio-económica (DGPA, 2007<sup>a,b</sup>).

O sector da pesca, integrando a captura, transformação e comercialização do pescado, constitui, em muitas regiões, uma actividade fundamental cuja relevância transcende os aspectos puramente económicos uma vez que o seu contributo social e como fonte de subsistência apresentam inegável importância e significado. A pesca em Portugal, continua a constituir a principal actividade económica de muitas comunidades ao longo da costa, funcionando como um importante factor de fixação das populações, existindo ao longo da costa muitas comunidades cuja actividade principal é a pesca (DGPA, 2007<sup>a,b</sup>).

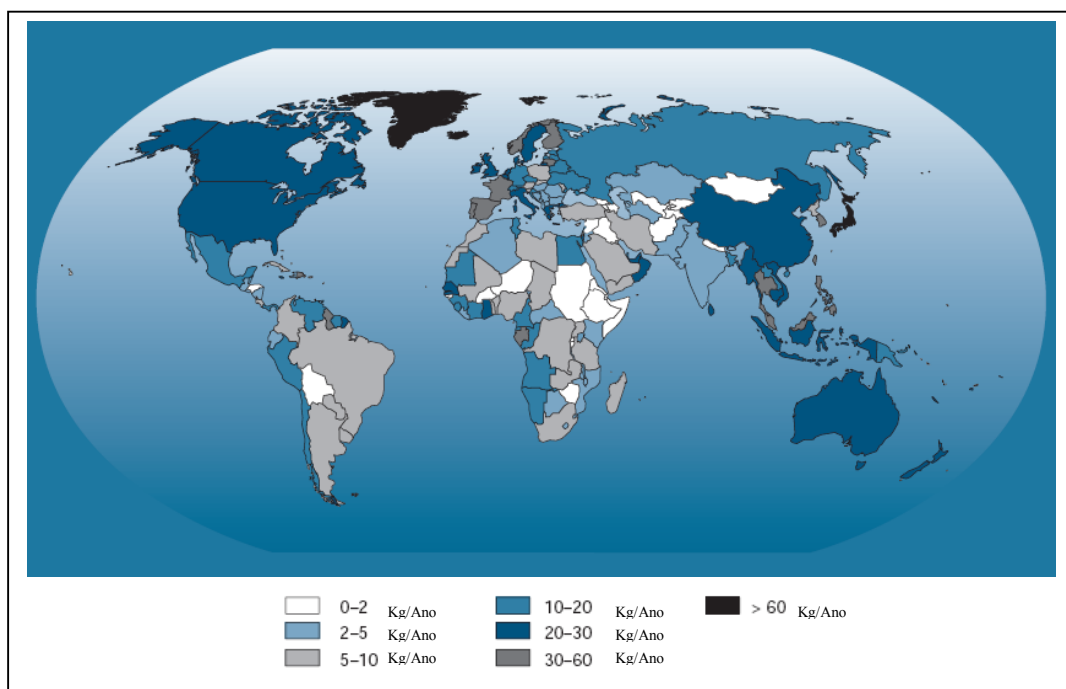
Portugal Continental possui uma elevada diversidade de espécies, mas, como se situa numa zona de transição para ecossistemas mais quentes, as capturas de cada espécie são pouco abundantes. Estes factores determinam a riqueza de pequenos pelágicos, como a sardinha, que habitualmente tem representado mais de 40 % das quantidades totais capturadas, e uma diversidade específica considerável, cuja abundância é determinada pela batimetria, condições hidrológicas e natureza dos fundos, especialmente no que se refere às espécies demersais (DGPA, 2007<sup>b</sup>).

Como resultado de plataformas continentais estreitas e elevadas profundidades, as regiões Autónomas apresentam uma menor riqueza piscícola relativamente às restantes zonas de pesca comunitárias (DGPA, 2007<sup>b</sup>). Nestas regiões, face aos condicionalismos de ordem física e biológica, as capturas assentam num conjunto muito limitado de espécies, algumas delas sujeitas a fluxos migratórios (tunídeos) ou cujo ciclo de vida não é ainda bem conhecido, como por exemplo o peixe-espada-preto (DGPA, 2007<sup>b</sup>).

Portugal é o País da União Europeia com o consumo *per capita* de pescado mais elevado, cerca de 57 kg/ano (Figura 1) (FAO, 2007), consumo este que o coloca em 3º lugar a nível mundial, depois do Japão e da Islândia (DGPA, 2007<sup>b</sup>). Este valor, que

representa um consumo individual de cerca de 160g de pescado por dia, corresponde a mais de 30 % do total da dieta proteica animal diária por habitante (DGPA, 2007<sup>a</sup>).

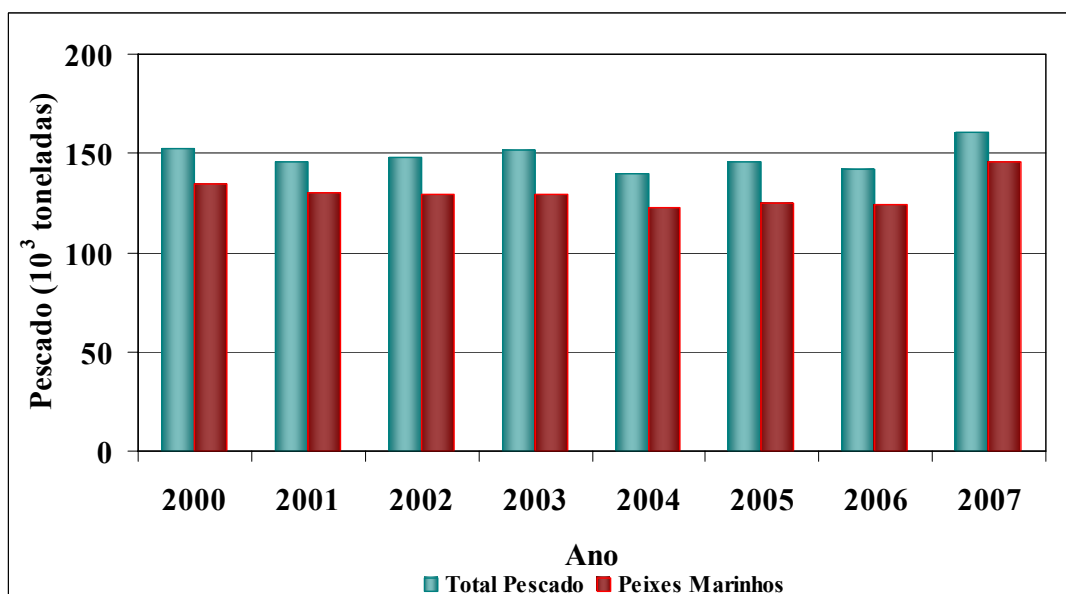
A produção nacional de pescado permite satisfazer uma procura *per capita* da ordem dos 23 Kg/ano (DGPA, 2007<sup>b</sup>) que, sendo idêntico à média comunitária (DGPA, 2007<sup>a</sup> e 2007<sup>b</sup>), se manifesta insuficiente face aos elevados níveis de consumo nacionais registados (DGPA, 2007<sup>b</sup>).



**Figura 1** – Consumo *per capita* dos produtos da pesca a nível mundial (adaptado de FAO, 2007).

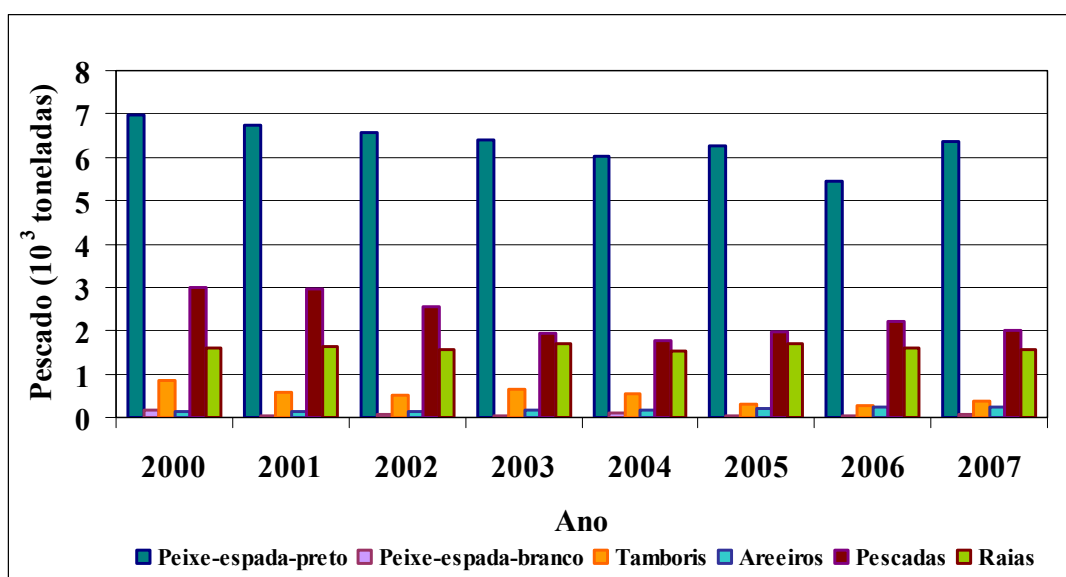
Atendendo aos resultados publicados pelo INE (2008<sup>a</sup>), em Portugal, verifica-se que, entre 2000 e 2007, o total de pescado, fresco ou refrigerado, descarregado em lota rondou em média as 148 000 toneladas/ano, sendo cerca de 130 000 toneladas provenientes da pesca de peixes marinhos (Figura 2).

Face aos anteriores, o ano de 2007 foi o que apresentou um maior volume de capturas nominais. Assim, foram capturadas cerca de 161 000 toneladas de pescado, no valor de 275 295 mil euros, o que representa um acréscimo de 13,5 % no volume de capturas e de 12,7 % no correspondente valor, relativamente ao ano de 2006. Para este crescimento contribuiu, amplamente, o aumento da captura de peixes marinhos (+17,2 % e +13,8 %, em quantidade e valor, respectivamente), bem como de crustáceos (INE, 2008<sup>b</sup>).



**Figura 2** – Capturas nominais de pescado (INE, 2008<sup>a</sup>).

Em média, as espécies estudadas neste trabalho representam 8,5 e 16 %, respectivamente do total de espécies de peixes marinhos desembarcado (Figura 3) e do valor total das capturas de peixes marinhos a nível nacional (inclui a sardinha).



**Figura 3** – Capturas nominais das espécies estudadas (INE, 2008<sup>a</sup>).

### 1.1.2 Biologia das espécies estudadas

As espécies estudadas são consideradas de profundidade, são carnívoras e de vida longa (vivem mais de 5 anos). São, em Portugal, espécies muito apreciadas e

consideradas importantes a nível económico. De modo a se poder compreender alguns resultados faremos uma pequena descrição das espécies estudadas onde serão abordados não só os aspectos biológicos característicos de cada espécie mas também a sua importância económica no Continente Português (Anexo I).

## **1.2 Considerações sobre a importância do pescado na dieta alimentar**

Os produtos da pesca e aquicultura desempenham um papel importante na alimentação humana, estimando-se que cerca de 14 % da proteína animal ingerida a nível mundial seja proveniente do pescado. O número de espécies consumidas é elevado, superior a um milhar, todavia o número das mais apreciadas e que tem maior valor comercial situa-se ao redor das três centenas. O pescado é comercializado sob diferentes formas, mais frequentemente inteiros ou eviscerados, ou sob a forma de filetes ou postas, mas também as ovas e o fígado são igualmente consumidos (Kołakowska *et al.*, 2003).

Ao consumo de produtos da pesca e aquicultura são atribuídos inúmeros benefícios nutricionais (Oehlenschläger, 1997; Kołakowska *et al.*, 2003). Assim, estes produtos são ricos em proteínas de elevado valor biológico, ácidos gordos polinsaturados (sobretudo da família n-3), apresentam baixos teores de colesterol e ácidos gordos saturados e são ainda pouco calóricos (Artemis & Simopoulos, 1997; Oehlenschläger, 1997; Nunes *et al.*, 2003). Para além disso, o pescado é um alimento de digestão fácil (Oehlenschläger, 1997; Nunes *et al.*, 2003), é uma excelente fonte de algumas vitaminas, nomeadamente a A e a D (Bruce *et al.*, 1997) e apresenta também uma enorme variedade de elementos minerais, alguns dos quais essenciais (Artemis & Simopoulos, 1997).

Vários estudos epidemiológicos têm evidenciado que o seu consumo diminui o risco de doenças coronárias, hipertensão e cancro (Artemis & Simopoulos, 1997; Bruce *et al.*, 1997; Simopoulos, 1997, 1999; Kołakowska *et al.*, 2003). Assim, numa dieta equilibrada recomenda-se o seu consumo regular, de modo a manter o bom funcionamento do organismo e prevenir algumas patologias, sobretudo do foro cardiovascular e oncológico (Artemis & Simopoulos, 1997). Segundo a AHA (American Heart Association) o consumo de duas refeições semanais é muito aconselhado (Lichtenstein *et al.*, 2006).

O pescado, para além de todas as vantagens já salientadas, proporciona uma grande variedade de iguarias e receitas devido à diversidade de espécies, forma,

tamanho e composição (Oehlenschläger, 1997), razões pelas quais pode ser considerado um alimento perfeito, quando livre de contaminantes (Artemis & Simopoulos, 1997).

Assim, se o valor nutricional do peixe é indiscutível o mesmo já não se passa com o risco de exposição do consumidor a substâncias poluentes que se podem acumular na parte edível do pescado. Entre estas substâncias poluentes destacam-se as dioxinas, PCB (bifenil policlorado e seus derivados) e elementos contaminantes como o mercúrio, cádmio, chumbo e arsénio (Freymy & Bordet, 2002).

Os perigos resultantes da presença de elementos contaminantes em ambientes marinhos implicam, não só, a toxicidade para o meio ambiente, mas também um grau considerável das suas concentrações na cadeia trófica, o que constitui um enorme factor de risco para a saúde humana (Torreblanca *et al.*, 1993; Al-Ghais, 1995; Soto & Marigómez, 1995; Zelikoff *et al.*, 1995; Burger & Gochfeld, 2005).

### **1.3 Composição química e valor nutricional do peixe**

Tal como outros produtos alimentares, o pescado contém água, proteínas e outros compostos azotados, hidratos de carbono, lípidos, vitaminas e minerais. Excluindo a água, as proteínas e os lípidos são os componentes maioritários encontrados na parte edível, enquanto os hidratos de carbono se encontram em níveis limitados no peixe, embora nos moluscos bivalves possam exceder os 5 % (Huss, 1995; Tocher, 2003).

A composição química da fracção edível do pescado proveniente de águas marinhas ou doce varia de espécie para espécie e de indivíduo para indivíduo, dependendo não só de factores geográficos e ambientais (Simopoulos, 1997), mas também da idade, sexo, estado de maturação sexual, comportamento migratório, alimentação, entre outros (Huss, 1995).

#### **1.3.1 Humidade**

Embora seja muito variável entre espécies, o pescado apresenta um elevado teor em água. Assim, no músculo dos peixes este teor varia, em regra, entre 60 a 80-82 % (Huss, 1995; Belitz *et al.*, 2004).

Sabendo que nos peixes o teor em gordura e água variam inversamente (Belitz *et al.*, 2004) e que a sua soma ronda os 80 %, um teor de humidade de 60 % indica um peixe com um teor lipídico elevado, ao passo que um teor de humidade de 80 % revela um peixe magro.



O teor em água e o tipo de interacção entre este constituinte e as proteínas, hidratos de carbono, lípidos e minerais determinam de modo significativo a textura (Belitz *et al.*, 2004).

### **1.3.2 Proteína e outros compostos azotados**

Contrariamente ao verificado nos lípidos, num grande número de espécies o teor em proteína não varia muito com a época do ano. A maioria das espécies apresenta, no músculo, um teor que se situa entre 17-20 % (Ackman, 1995; Haard, 1995; Belitz *et al.*, 2004) o que corresponde a aproximadamente 2-3 % de azoto proteico (Belitz *et al.*, 2004). No entanto, algumas espécies apresentam um acentuado decréscimo deste teor na altura da maturação das gónadas e/ou quando sujeitas a longos períodos de inanição, sendo este acompanhado por um aumento do teor em água no músculo (Haard, 1995).

As proteínas do músculo dos produtos da pesca podem ser divididas em três grupos: as sarcoplasmáticas (por exemplo, a mioalbumina, globulina e enzimas), que representam cerca de 20 a 30 % do total de proteínas do músculo, as contrácteis ou estruturais (de entre as quais se destacam a actina, miosina, actomiosina e tropomiosina), que constituem cerca de 70 a 80 % do total e as do tecido conjuntivo (nomeadamente colagénio) que atingem valores próximos de 3 % nos peixes teleósteos (peixes ósseos) e 10 % nos elasmobrânquios (peixes cartilagíneos) (Haard, 1995; Huss, 1995; Belitz *et al.*, 2004).

Tal como acontece noutros organismos vivos, a função celular dos compostos de azoto no peixe inclui a participação na catálise enzimática (enzimas), a osmorregulação, a regulação de reacções metabólicas (hormonas), o envolvimento na estrutura celular (elastina e colagénio), a contractilidade muscular (miosina e actina), o transporte (hemoglobina, transferrina), o armazenamento (ovalbumina) e a imunoprotecção (imunoglobinas) (Ackman, 1995).

O tipo e a concentração dos compostos azotados influenciam não só os atributos sensoriais como a cor, sabor, textura, mas também as características nutricionais e a velocidade de deterioração na fase *post-mortem*. (Haard, 1995; Belitz *et al.*, 2004).

Segundo o IOM (2005), a qualidade de uma determinada fonte proteica é determinada, principalmente, por dois factores: pela sua digestibilidade e composição em aminoácidos.

A digestibilidade é medida pela percentagem de proteína ingerida que é efectivamente absorvida no tracto gastrointestinal. Assim, as proteínas do peixe exibem

uma elevada digestibilidade (Oehlenschläger, 1997; Nunes *et al.*, 2003; Usydus *et al.*, 2009), podendo apresentar percentagens próximas dos 100 % (Usydus *et al.*, 2009). Segundo Oehlenschläger (1997) e Nunes *et al.* (2003), a elevada digestibilidade das proteínas provenientes do pescado deve-se ao facto destes produtos possuírem baixa percentagem em tecido conjuntivo quando comparado com as carnes vermelhas e de aves.

Por outro lado, as proteínas constituintes do peixe contêm todos os aminoácidos essenciais (Bandarra *et al.*, 2001, IOM, 2005, Usydus *et al.*, 2009) e, tal como a carne, leite e ovo a sua composição é bem balanceada (Haard, 1995, IOM, 2005).

As proteínas são um componente fundamental necessário ao adequado funcionamento celular e dos órgãos. Desta forma, a sua deficiência está associada a efeitos adversos, entre outros, ao nível da função cerebral, renal, mucosa intestinal e sua permeabilidade, podendo provocar também alterações no sistema imunitário e diminuição do crescimento (IOM, 2005). Para além destes efeitos, segundo o IOM (2005), o consumo de proteínas está inversamente relacionado com o risco de aumento de doenças cardiovasculares e diminuição da pressão sanguínea. Assim, por exemplo, a substituição dos hidratos de carbono por proteína, na dieta alimentar, está associada a uma diminuição do colesterol ligado às LDL (lipoproteínas de baixa densidade) e dos triacilgliceróis no plasma (IOM, 2005).

No que respeita aos efeitos adversos causados pelo consumo excessivo de proteína há pouca informação (IOM, 2005). No entanto, foi reportado um episódio em que um de dois exploradores do Ártico, que consumiu grande quantidade de carne magra (45 % das calorias provinham da proteína), apresentou sintomas de fraqueza, náuseas e diarreia, sintomas estes que foram anulados quando o teor de proteína foi reduzido para 20 a 25 % das calorias (IOM, 2005). No entanto, noutros casos onde não só o consumo de proteína é elevado mas também o de gordura, como por exemplo em Esquimós, não são verificados efeitos adversos (IOM, 2005).

No que respeita aos compostos que constituem o azoto não proteico são, na sua maioria, encontrados no sarcoplasma e incluem péptidos, aminoácidos livres, óxido de trimetilamina e ureia, entre outros (Haard, 1995; Huss, 1995). Este conjunto representa 9 a 18 % nos peixes teleósteos e 33-38 % nos elasmobrânquios em relação ao teor total de azoto presente no músculo (Belitz *et al.*, 2004). Estes constituintes não proteicos desempenham um importante papel quer nas características sensoriais quer na

degradação (Huss, 1995) pelo que, muito frequentemente, se recorre à sua quantificação para avaliar a evolução da perda de qualidade.

### **1.3.3 Hidratos de carbono**

Estes compostos encontram-se no músculo estriado, onde ocorrem sob a forma de glicogénio e como parte integrante dos nucleótidos (Huss, 1995), normalmente em concentração inferior à existente nos mamíferos (Belitz *et al.*, 2004). A concentração de hidratos de carbono no músculo do peixe é muito baixa, sendo usualmente inferior a 0,3 % (Belitz *et al.*, 2004), razão pela qual este constituinte não é normalmente quantificado.

### **1.3.4 Lípidos totais**

A designação lípidos engloba todos os constituintes da matéria gorda. Estes formam um grupo de compostos de natureza química muito variável. Possuem propriedades físicas, químicas e fisiológicas que os tornam não só importantes em termos nutritivos como também tecnológicos. São também uma importante contribuição para as características sensoriais do alimento, no que diz respeito sobretudo à textura e paladar. Para além disso a sua ingestão fornece compostos essenciais como alguns ácidos gordos (Cichon, 2003).

Os lípidos desempenham diversas funções biológicas importantes tais como: componentes estruturais das membranas biológicas, fontes e depósitos de energia (McDonald *et al.*, 2002; Kołakowska & Sikorski, 2003), veículos para a absorção de outros nutrientes (ex.: vitaminas e antioxidantes) e são componentes de hormonas e precursores na síntese de eicosanóides tais como as prostaglandinas (Kołakowska & Sikorski, 2003), leucotrienos e tromboxanos (Cichon, 2003). Além das funções enumeradas, actuam como sensores da temperatura, e fornecem ácidos gordos do tipo n-6 e n-3, alguns dos quais não podem ser biossintetizados pelos organismos animais (Kołakowska & Sikorski, 2003).

O teor em lípidos no peixe pode variar entre 0,1 % (Huss, 1995) e 45 % (Kołakowska *et al.*, 2003), existindo várias classificações para definir o teor de gordura no tecido muscular do peixe. Segundo Belitz *et al.* (2004), as várias espécies de peixe podem ser classificadas como magras (0,1-0,4 % de lípidos), gordas (maiores de 16 % de lípidos) e semi-gordas (com um teor a variar entre estes dois extremos). Por outro lado, outros autores (Kołakowska *et al.*, 2003) consideram quatro grupos: magras (<2 %

de lípidos), com baixo teor em gordura (2-4 % de lípidos), com teor médio (4-8 % de lípidos) e muito gordas (>8 % de lípidos).

Para uma mesma espécie o teor de lípidos pode variar muito. Assim, por exemplo, a sardinha pode apresentar teores de gordura entre 1 % e 18 % (Bandarra *et al.*, 2001), respectivamente entre Fevereiro/Março e Setembro/Outubro e na sarda a variação é frequente entre 4 e 30 % (Kořakowska *et al.*, 2003). Estas oscilações ocorrem devido às diferentes funções que estes compostos desempenham, destacando-se todavia o fornecimento de energia metabólica utilizada durante o seu crescimento, reprodução e movimentação (incluindo as migrações) (Kořakowska *et al.*, 2003; Tocher, 2003).

Desta forma, a variação do teor lipídico é influenciada não só pela espécie, mas também por diversos factores, entre os quais se destacam o sexo, estado de maturação, época do ano, migração, alimentação (Huss, 1995; Ackman, 1995; Bandarra *et al.*, 2002; Kořakowska & Sikorski, 2003; Kořakowska *et al.*, 2003; Belitz *et al.*, 2004; Nunes *et al.*, 2003, 2006).

A deposição de lípidos no peixe ocorre, principalmente, no músculo, fígado e na cavidade abdominal à volta das vísceras. O músculo escuro contém mais lípidos do que o claro. Esta diferente composição lipídica está relacionada com a adaptação biológica das diferentes espécies, na medida em que o músculo claro é utilizado, sobretudo nos movimentos bruscos, enquanto o escuro é utilizado em movimentos constantes. Assim, espécies que apresentam tecido muscular claro não efectuam grandes deslocações para se alimentar ou reproduzir (menor consumo de energia), contrariamente ao que acontece com as espécies que apresentam tecido muscular escuro que recorrem a movimentos constantes para atingir os mesmos objectivos (Huss, 1995; Kořakowska *et al.*, 2003), o que implica um maior consumo energético.

O teor de gordura no fígado é também um aspecto de grande interesse, pois as espécies magras acumulam uma fracção importante das suas reservas lipídicas no fígado, ao passo que numa espécie gorda essa acumulação ocorre preferencialmente no tecido muscular (Huss, 1995). As espécies magras vivem tipicamente a maiores profundidades enquanto as gordas incluem espécies que vivem principalmente na parte superior da coluna de água (peixes pelágicos) (Huss, 1995).

Os lípidos nos peixes gordos são constituídos maioritariamente por triacilgliceróis. No peixe magro, os fosfolípidos constituem quase 90 % do teor de lípidos no músculo (Huss, 1995; Kořakowska *et al.*, 2003) enquanto a percentagem de triacilgliceróis se situa ao redor de 1 % (Kořakowska *et al.*, 2003).

Os fosfolípidos, também chamados lípidos estruturais, fazem parte integral da estrutura das membranas e os triacilgliceróis são usados principalmente no fornecimento e armazenamento de energia (Huss, 1995; Kołakowska & Sikorski, 2003). Estes lípidos estruturais, para além de possuírem uma percentagem de ácidos gordos polinsaturados, apresentam, no peixe, uma composição mais estável ao longo do ano enquanto que os triacilgliceróis no músculo estão sujeito a variações sazonais (Ackman, 1995; Huss, 1995). A fracção fosfolipídica é constituída basicamente por fosfatidilcolina (69 %), fosfatidiletanolamina (19 %) e fosfatidilserina (5 %) (Huss, 1995).

#### **1.3.4.1 Ácidos gordos**

Os ácidos gordos são os principais constituintes dos lípidos. A sua composição é determinante para as propriedades físicas, estabilidade e valor nutricional da fracção lipídica dos alimentos.

A percentagem de ácidos gordos com mais de 20 átomos de carbono e mais de 4 ligações duplas é, de um modo geral, significativamente maior nos produtos da pescada que a encontrada na gordura vegetal e da maioria dos animais (Huss, 1995). Por outro lado, mais de 40 % dos lípidos existentes no peixe apresentam um teor de ácidos gordos de cadeia longa (14-22 carbonos) que são muito insaturados. A percentagem de polinsaturados, nos peixes marinhos, com quatro, cinco e seis ligações duplas pode atingir 88 % (Huss, 1995).

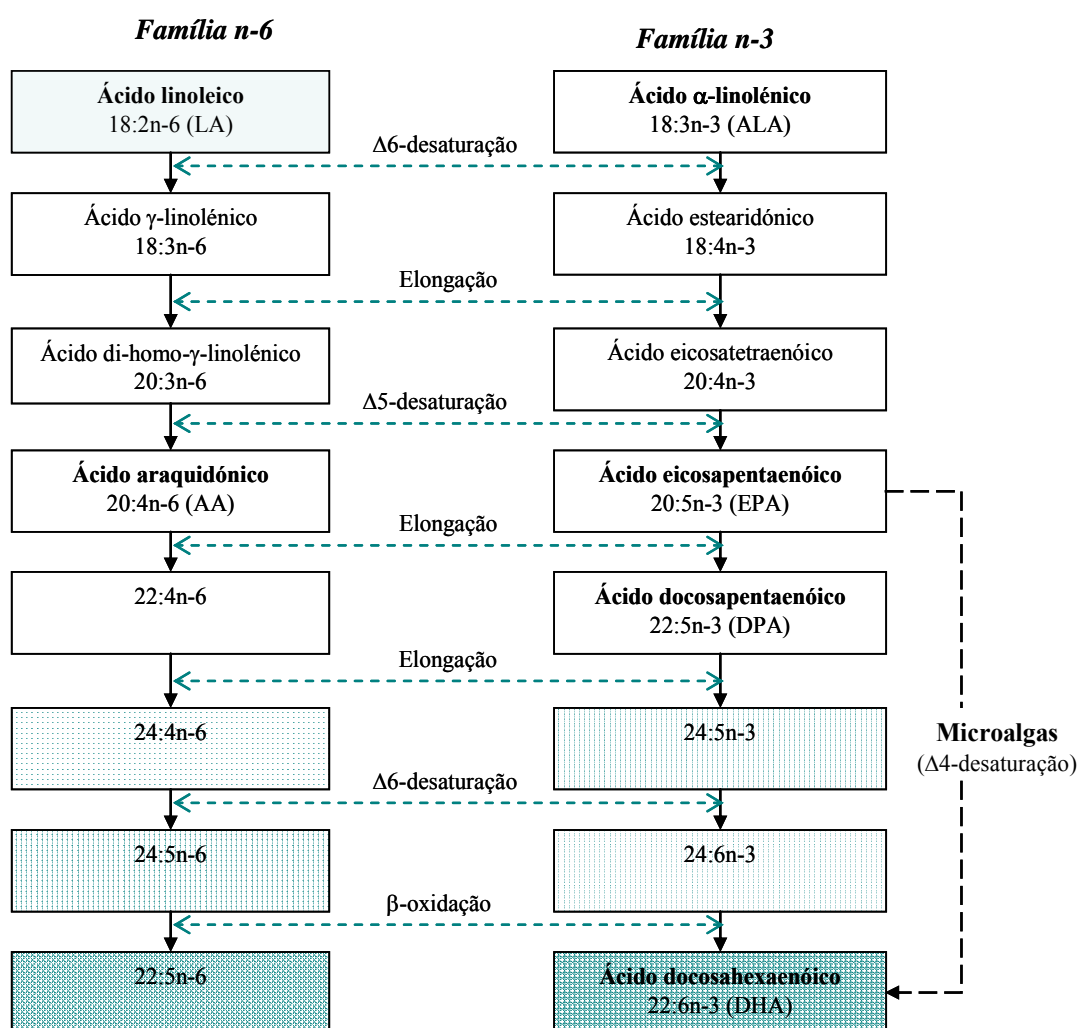
Entre outras causas, a composição em ácidos gordos dos peixes é reflexo da sua dieta alimentar uma vez que o número de ácidos gordos biossintetizados não é significativo (Tocher, 2003), podendo variar com o tipo e disponibilidade do alimento ingerido (Huss, 1995; Kołakowska *et al.*, 2003). Assim, a quase totalidade dos lípidos de origem marinha é veiculada pela cadeia alimentar, originados na base da cadeia alimentar pelo fitoplâncton e zooplâncton (Tocher, 2003). Para além deste factor, a composição dos lípidos pode variar também com o teor em gordura, estado fisiológico (Bandarra *et al.*, 2001; Kołakowska *et al.*, 2003), idade (Simopoulos, 1997), época do ano e área geográfica (Huss, 1995; Kołakowska *et al.*, 2003, Tocher, 2003). Como consequência é de esperar variação apreciável na composição em ácidos gordos de espécie para espécie e, dentro da mesma espécie, de local para local e de ano para ano (Bandarra *et al.*, 1992; Kołakowska *et al.*, 2003, Tocher, 2003).

Assim, o pescado apresenta ácidos gordos saturados, monoinsaturados e polinsaturados com perfil variável e com diferentes proporções consoante a espécie

(Kořakowska & Sikorski, 2003; Kořakowska *et al.*, 2003, Nunes *et al.*, 2003, 2006). No entanto, em regra, o peixe possui um baixo teor de ácidos gordos saturados comparativamente com o dos insaturados (Simopoulos, 1997, Bandarra *et al.*, 2001). Apesar da composição dos ácidos gordos variar com diversos factores intrínsecos e extrínsecos como já referido, de um modo geral, o ácido gordo saturado predominante é o palmítico (16:0), seguido do mirístico (14:0) e em menor quantidade o esteárico (18:0). Dos monoinsaturados o dominante é o ácido oleico (18:1n-9), seguido do palmitoleico (16:1n-7) (Kořakowska *et al.*, 2003). Em relação aos polinsaturados com a configuração n-3, o ácido gordo eicosapentaenóico (EPA, 20:5n-3) e docosahexaenóico (DHA, 22:6n-3) são quantitativamente os mais abundantes (Kořakowska *et al.*, 2003). De um modo geral, os peixes que vivem em águas frias e profundas apresentam maiores níveis de ácidos gordos n-3, como o EPA e o DHA (Simopoulos, 1997). Com a configuração n-6 o ácido predominante é o araquidónico (AA, 20:4n-6), existindo os restantes em quantidades vestigiais (Kořakowska *et al.*, 2003). No peixe estima-se que o ácido gordo linoleico (LA) e o  $\alpha$ -linolénico (ALA), dois ácidos gordos essenciais, existem em quantidades inferiores a 2 % (Kořakowska *et al.*, 2003).

O corpo humano possui a capacidade de sintetizar muitos compostos. No que respeita aos ácidos gordos verifica-se que os saturados e os monoinsaturados são obtidos ou através da dieta ou pela síntese completa via acetil-CoA. Contrariamente, os ácidos gordos dos tipos n-3 e n-6, que representam aproximadamente um terço dos ácidos gordos intracelulares, em regra, não são biossintetizados pelos animais incluindo o Homem (Cichon, 2003).

Na nutrição humana, os ácidos gordos como o linoleico (LA, 18:2n-6) e o  $\alpha$ -linolénico (ALA, 18:3n-3), são considerados essenciais (Huss, 1995; Cichon, 2003). Estes ácidos, alternando entre desaturação e alongação das suas cadeias (Figura 4), originam, respectivamente, as famílias n-6 e a n-3 (Cichon, 2003). O ácido araquidónico (AA, 20:4n-6), proveniente da desaturação/elongação do LA, é um dos principais componentes dos lípidos das membranas (fosfolípidos) e precursor de eicosanóides. A partir da alongação/desaturação do ALA forma-se o EPA, que possui um papel fisiológico muito importante na modulação e formação de eicosanóides, o ácido docosapentaenóico (DPA, 22:5n-3) e o DHA (Cichon, 2003). No entanto, estima-se que a taxa de conversão de ALA em EPA seja inferior a 5 %, e deste último em DHA inferior a 0,05 % (Wang *et al.*, 2006).



**Figura 4** – Representação esquemática da biossíntese dos ácidos gordos essenciais (adaptado de Christie, 2008).

O ser humano evoluiu com base numa dieta com concentrações idênticas de ácidos gordos n-6 e n-3 (razão próxima de 1). Nos últimos 100-200 anos houve um aumento significativo do consumo de ácidos gordos do tipo n-6, na medida em que aumentou o consumo de óleos (soja, gérmen de trigo, cânhamo, algodão, milho, girassol, cártamo, azeitona, palma e sésamo) e, entre outras causas, teve lugar uma diminuição do consumo de peixe. Desta forma, actualmente, a razão n-6/n-3 é de 10-30/1 (Simopoulos, 1999, 2000, 2006).

As deficiências quer dos n-3 quer dos n-6, têm sido estudadas clinicamente e podem ser diferenciadas por sintomatologias predominantes.

Na deficiência dos n-6 os sintomas comuns incluem, lesões na pele, anomalias na reprodução, atrasos no crescimento, perda de cabelo, fígado gordo e irregularidades

no balanço de água (Kořakowska *et al.*, 2003). Em contrapartida, outros estudos indicam que o consumo elevado de n-6 pode originar um estado fisiológico pró-trombótico e pró-agregatório, caracterizado por um aumento da viscosidade do sangue, vasoespasmos e vasoconstrição, entre outros.

Em relação aos ácidos gordos do tipo n-3, têm sido realizados estudos epidemiológicos, investigações clínicas, experiências em animais e estudos *in vitro* no sentido de se avaliar o efeito destes na prevenção de doenças coronárias, hipertensão, diabetes, combate a algumas formas de cancro, desenvolvimento e funções do cérebro e sistema nervoso, tratamento da artrite reumatóide, psoríase, colite ulcerativa, e perturbações do sistema imunitário com resultados encorajadores (Simopoulos, 1997; Simopoulos, 1999; Kořakowska *et al.*, 2003). Estes efeitos benéficos têm sido verificados em diversos estudos efectuados, principalmente, com a suplementação de óleos de peixe (Simopoulos, 1999).

Uma razão anormal entre as classes n-3 e n-6 está ligada a mudanças na composição lipídica das membranas vasculares e ao aumento da incidência de aterosclerose e perturbações no sistema imunitário (Kořakowska *et al.*, 2003).

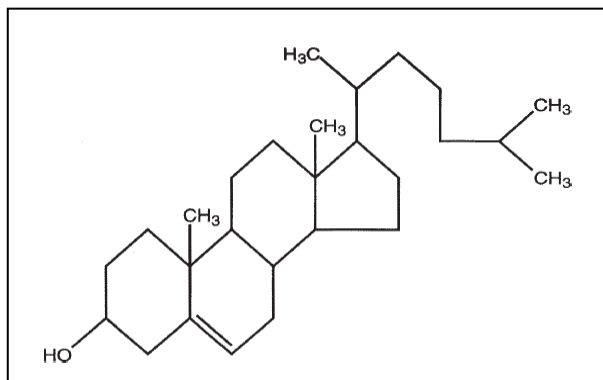
Assim sendo, torna-se fundamental o consumo de alimentos ricos em n-3 de modo a contrabalançar o consumo excessivo de n-6. Sendo o peixe uma boa fonte de ácidos gordos polinsaturados da série n-3 de cadeia longa, fornecendo elevados teores do ácido eicosapentaenóico (EPA) e do docosahexaenóico (DHA), é considerado muito importante e benéfico, de um ponto de vista fisiológico e nutricional, para a saúde (Bandarra *et al.*, 1992; Simopoulos, 1997; Bandarra *et al.*, 2001; Cichon, 2003; Kořakowska *et al.*, 2003; Tocher, 2003; Belitz *et al.*, 2004). De facto, o peixe é a fonte mais importante destes ácidos gordos n-3 para o Homem.

Assim, uma alimentação rica em peixe e óleos de peixe está associada a uma diminuição do nível de triacilgliceróis no sangue (efeito hipolipidémico), um aumento do teor das lipoproteínas de alta densidade (HDL) e à redução das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) (Bandarra *et al.*, 2001). De notar que a presença de concentrações elevadas de LDL no plasma tem sido associada ao desenvolvimento de aterosclerose coronária e cerebral, enquanto pelo contrário, as HDL oferecem um efeito protector contra esta doença (Bandarra *et al.*, 2001; IOM, 2005).



### 1.3.4.2 Colesterol

O colesterol (Figura 5) é o esterol que se encontra em maior quantidade nos



**Figura 5** – Colesterol  
(adaptado de Tocher, 2003).

síntese de hormonas esteróides, como o estrogénio, testosterona e aldosterona, bem como de ácidos biliares (Huss, 1995; Kołakowska & Sikorski, 2003; Wąsowicz, 2003; Belitz *et al.*, 2004; IOM, 2005).

Este esterol encontra-se na maioria dos alimentos ricos em proteínas, como, por exemplo, carnes de aves, carnes vermelhas bem como em produtos da pesca (Nunes *et al.*, 2003). De acordo com Oehlenschläger (2006), 90 % do total de esteróis no peixe é colesterol enquanto segundo Kołakowska *et al.* (2003) essa percentagem pode ascender aos 95 %. Nos peixes magros, o teor de colesterol pode representar cerca de 6 % do total de lípidos, valor este comparável ao dos mamíferos (Huss, 1995).

De um modo geral, os peixes marinhos não são uma importante fonte de colesterol na dieta alimentar (Simopoulos, 1997; Oehlenschläger, 2000; Bandarra *et al.*, 2001; Kołakowska *et al.*, 2003; Nunes *et al.*, 2003; Oehlenschläger, 2006), todavia, noutros produtos da pesca, como alguns cefalópodes, podem ser atingidos valores superiores a 100 mg/100g. No entanto, o facto destes produtos da pesca serem ricos em taurina, um aminoácido livre que reduz a absorção do colesterol, estes níveis não são preocupantes (Nunes *et al.*, 2003; Elvevoll *et al.*, 2008).

Oehlenschläger (2006), refere que se podem observar consideráveis variações do teor deste esterol entre e dentro da mesma espécie. Assim, no peixe, os níveis de colesterol só podem ser efectivamente avaliados e conhecidos quando se olha, não só para a sua concentração média nos tecidos, mas também para vários factores (local de captura, variações sazonais, comprimento, sexo, entre outros), que podem explicar a variabilidade do seu teor (Oehlenschläger, 2000, 2006).

animais, incluindo o pescado, e ocorre na forma livre (não esterificado) ou esterificada com os ácidos gordos saturados e insaturados (Wąsowicz, 2003; Belitz *et al.*, 2004) e algumas proteínas (IOM, 2005).

O colesterol livre é um componente integral das membranas celulares e ponto de partida para a

Vários estudos indicam que o elevado consumo de colesterol na dieta alimentar contribui para o aumento do risco de aparecimento de doenças cardiovasculares (Wąsowicz, 2003; IOM, 2005). Desta forma, altos teores de colesterol no plasma sanguíneo, facto muitas vezes associado a dietas gordas enriquecidas em colesterol, têm contribuído para o aumento do aparecimento de doenças cardiovasculares (IOM, 2005) como a aterosclerose. Esta doença pode provocar inúmeras sequelas incluindo, entre outras, ataques cardíacos e doença vascular periférica. Nos países desenvolvidos, esta é a principal causa de morte, superior à provocada por doenças degenerativas. No entanto, quando se consome uma dieta nutricionalmente adequada, é possível baixar o teor de colesterol (IOM, 2005).

### **1.3.5 Vitaminas**

As vitaminas são compostos orgânicos complexos presentes em pequenas quantidades nos alimentos, no entanto, são essenciais na manutenção das funções fisiológicas dos organismos (Lall & Parazo, 1995; McDonad *et al.*, 2002; Nogala-Kałucka, 2003). Estas são normalmente divididas em duas classes: as lipossolúveis, onde está inserida a vitamina E, e as hidrossolúveis.

O teor de vitaminas lipossolúveis no peixe é semelhante ao encontrado nos mamíferos, com excepção das vitaminas A e D que estão presentes em maiores concentrações no tecido muscular de espécies de peixe consideradas gordas e no fígado de espécies magras como, por exemplo, o bacalhau e o alabote (Lall & Parazo, 1995; Huss, 1995).

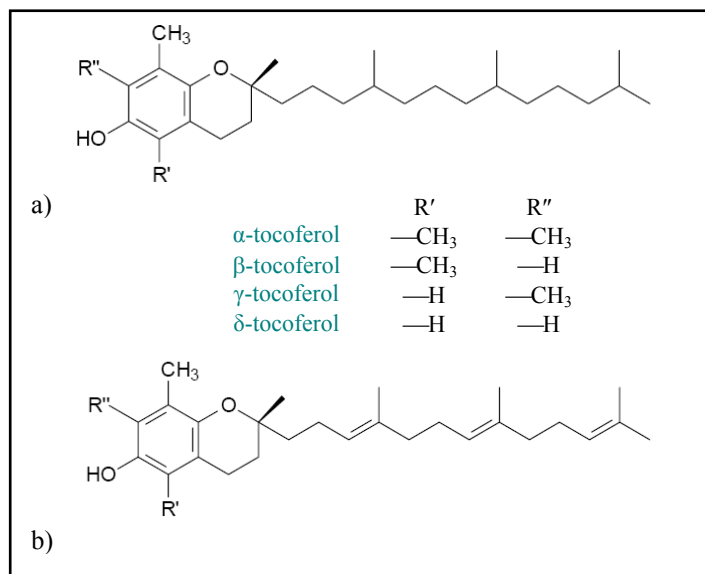
Estas vitaminas não constituem nenhuma fonte de energia para o organismo humano nem são consideradas material estrutural. No entanto, nas células e nos tecidos desempenham funções reguladoras que são determinantes no crescimento, eficiência física e funcionamento global do organismo (Nogala-Kałucka, 2003).

Numa dieta equilibrada os teores usuais de vitaminas são considerados adequados para as necessidades diárias do organismo humano. No entanto, uma deficiência vitamínica, pode resultar numa hipovitaminose e, em casos mais graves, numa avitaminose. Ambas podem ocorrer não só como consequência do seu deficiente suplemento na alimentação mas também causada por distúrbios na sua absorção, *stress* ou por situações patológicas de várias etiologias (IOM, 2000).

Dada a sua importância fisiológica (IOM, 2000), ao longo do presente trabalho apenas nos iremos referir ao teor de vitamina E.

### 1.3.5.1 $\alpha$ -Tocoferol

A vitamina E é um membro da família dos trepenóides. Possui oito formas homólogas, quatro tocoferóis ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ), também designadas de saturadas, e quatro tocotrienos ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ), também referidas como insaturadas (IOM, 2000; McDonad *et al.*, 2002; Nogala-Kałucka, 2003; Halliwell & Gutteridge, 2007). As estruturas químicas dos vários tocoferóis diferem no número e posição do grupo metil no anel como se ilustra na Figura 6.



**Figura 6** – a) Tocoferóis b) Tocotrienos (adaptado de Christie, 2008).

A vitamina E, não sendo biossintetizada pelos organismos animais, incluindo o homem, necessita de ser incorporada nesses organismos através da dieta alimentar (Nogala-Kałucka, 2003). Entre as principais fontes de vitamina E destacam-se sementes de oleaginosas (Visioli & Hagen, 2007), vegetais, cereais integrais, peixe, ovo e soja.

No peixe e outros organismos marinhos a vitamina E apresenta-se sobretudo sob a forma de  $\alpha$ -tocoferol (Syväoja & Salminen, 1985; Lall & Parazo, 1995). O tecido muscular do peixe não é uma fonte privilegiada de  $\alpha$ -tocoferol (Belitz *et al.*, 2004) ao contrário do que acontece com os óleos de peixe extraídos do fígado (Lall & Parazo, 1995; Parazo *et al.*, 1998). A concentração deste tocoferol no tecido muscular é muito oscilante (Syväoja & Salminen, 1985; Lall & Parazo, 1995; Kuhnlein *et al.*, 2006), variando, sobretudo, com a espécie e com a alimentação (Huss, 1995; Lall & Parazo, 1995; Belitz *et al.*, 2004). Normalmente os peixes gordos apresentam maiores concentrações de  $\alpha$ -tocoferol do que os magros e, por outro lado, o tecido muscular escuro contém teores mais elevados que o claro (Lall & Parazo, 1995).

Esta vitamina apresenta um enorme interesse não só a nível nutricional como fisiológico (Belitz *et al.*, 2004), na medida em que está envolvida em inúmeros processos metabólicos nos organismos animais, incluindo o humano, estando um dos seus principais mecanismos de acção relacionado com a sua função antioxidante (IOM, 2000; McDonad *et al.*, 2002; Nogala-Kałucka, 2003; Belitz *et al.*, 2004; Halliwell & Gutteridge, 2007).

Como é sabido, a oxidação lipídica é o factor que mais condiciona o tempo de semi-vida do pescado, afectando, desta forma, a qualidade nutricional, organoléptica e, consequentemente, a sua aceitação por parte do consumidor (Falch *et al.*, 2006). Como já referido, os lípidos marinhos contêm quantidades apreciáveis de ácidos gordos polinsaturados de cadeia longa, nomeadamente o EPA e o DHA, que são particularmente susceptíveis à oxidação. Os tocoferóis são antioxidantes naturais que promovem a estabilidade oxidativa prevenindo, desta forma, a lipoperoxidação lipídica (De Silva & Anderson, 1995; Barstad *et al.*, 2006; Falch *et al.*, 2006; Halliwell & Gutteridge, 2007; Mourente *et al.*, 2007). Eles são conhecidos como os mais importantes antioxidantes lipofílicos nas células vivas do peixe (Barstad *et al.*, 2006). Por outro lado, é também conhecida a acção antioxidante desta vitamina nas reacções de stress oxidativo originadas pela ruptura de formas orgânicas de mercúrio em órgãos alvo (Parazo *et al.*, 1998; Rao & Sharma, 2001), sendo a sua acção sinérgica com o selénio (Lall, 1995; McDonad *et al.*, 2002; Belitz *et al.*, 2004).

De acordo com Parazo *et al.* (1998), é nas membranas ricas em fosfolípidos que os antioxidantes, como o  $\alpha$ -tocoferol, exercem *in vivo* o seu papel biológico. Segundo os mesmos autores, o restante  $\alpha$ -tocoferol encontra-se, presumivelmente, nos triacilgliceróis da gordura subcutânea.

No decurso dos mecanismos fisiológicos e/ou patológicos são gerados a nível intracelular espécies reactivas de oxigénio susceptíveis de promover danos na estrutura da membrana celular ou mesmo a nível do próprio núcleo. Entre as espécies reactivas de oxigénio destacam-se os radicais superóxido, hidroxilo e o peróxido de hidrogénio. A reactividade do radical hidroxilo sobre as cadeias fosfolipídicas da membrana celular tem a capacidade de iniciar uma cascata de eventos que é globalmente referida como o fenómeno da peroxidação lipídica. De entre os produtos de degradação formados no decurso destes fenómenos oxidativos a nível das cadeias lipídicas destaca-se o radical peroxilo ( $\text{ROO}^{\bullet}$ ) (Halliwell & Gutteridge, 2007).

Nos organismos, inclusive no humano, existem sistemas antioxidantes endógenos tais como as enzimas superóxido-dismutase, glutathione peroxidase e catalase, que constituem a linha inicial de defesa contra respectivamente o radical superóxido e o peróxido de hidrogénio (McDonad *et al.*, 2002; Halliwell & Gutteridge, 2007).

Como já referido, o  $\alpha$ -tocoferol tem uma actividade biológica basicamente assente nas suas propriedades antioxidantes, mais elevada que os outros tocoferóis. A sua acção é sobretudo notória pela sua rápida actuação sobre o radical peroxilo (Belitz *et al.*, 2004; Mourente *et al.*, 2007).

Desta forma, o radical peroxilo ( $\text{ROO}^{\bullet}$ ) reage com a vitamina E (Vit E-OH) através do grupo hidroxilo do  $\alpha$ -tocoferol, formando o correspondente hidroperóxido orgânico e o radical tocoferoxilo (Vit E-O $^{\bullet}$ ). Assim sendo em presença da vitamina E a reacção que ocorre é a seguinte:



Ao inactivar a reactividade do radical peroxilo, a vitamina E inibe a propagação das reacções radicalares em cadeia (Nogala-Kałucka, 2003; Mourente *et al.*, 2007), contribuindo para a diminuição do que é geralmente designado de stress oxidativo.

O envolvimento da vitamina E, como um antioxidante, nas reacções de stress oxidativo (Pryor, 2000), tem contribuído para a sua importância em todas as situações fisiopatológicas que tenham por base a produção de espécies reactivas de oxigénio. Estão neste caso, entre outras, as doenças cardiovasculares (IOM, 2000; Visioli & Hagen, 2007), neurodegenerativas e oncológicas (IOM, 2000).

### **1.3.6 Minerais**

A importância dos minerais como constituintes dos alimentos depende, não só, do seu papel nutricional e fisiológico, mas também da sua contribuição para os atributos sensoriais como o sabor e a textura (Belitz & Grosch, 1999; Belitz *et al.*, 2004).

O teor de minerais fornecido por um dado regime alimentar provém, não só da quantidade ingerida de um dado elemento, como também, da sua biodisponibilidade, estando esta última relacionada essencialmente com a composição do alimento. Assim, o potencial redox e o valor de pH determinam o estado de valência, solubilidade, e consequentemente, a absorção do elemento mineral. Por outro lado, uma série de outros

constituintes, como as proteínas, péptidos, aminoácidos, açúcares e ácidos orgânicos, entre outros, ligam-se aos minerais e podem coadjuvar ou inibir a sua absorção (Belitz & Grosch, 1999; McDonald *et al.*, 2002; Belitz *et al.*, 2004; Cabañero *et al.*, 2004).

Do ponto de vista biológico, os minerais dividem-se em duas categorias: essenciais e não essenciais. Os essenciais são conhecidos por serem utilizados em pequenas concentrações no desempenho de funções metabólicas vitais dos diferentes organismos, ao contrário dos não essenciais, para os quais, até hoje, não se conhece nenhuma função metabólica e que podem ser tóxicos mesmo em concentrações baixas (Alemany & Remesar, 1993; Nriagu, 1993; Navarro-Pedreño *et al.*, 1993; Chang & Cockerham, 1994; Depledge *et al.*, 1994; Dallinger, 1995<sup>b</sup>; Lall, 1995; Soto & Marigómez, 1995; Taylor, 1995; Belitz & Grosch, 1999; Celik *et al.*, 2004).

Desde logo deve dizer-se que todos os elementos químicos são tóxicos quando em concentrações elevadas, incluindo os elementos ditos essenciais. Por outro lado, alguns são tóxicos mesmo em concentrações diminutas, outros são tóxicos quando numa forma química determinada e outros apresentam toxicidade variada consoante o sistema biológico considerado (Ramo *et al.* 1993; Taylor, 1995; Sivaperumal *et al.*, 2007).

Os elementos minerais existem naturalmente no meio aquático e a maior parte dos organismos aquáticos pode reter e mesmo acumular minerais do meio ambiente (Pigott & Tucker, 1990; Lall, 1995).

No peixe, tal como noutros organismos, os elementos inorgânicos essenciais são necessários não só para assegurar a manutenção dos processos metabólicos, mas também como fontes de material estrutural. Os peixes, principalmente os de origem marinha, têm a vantagem do ambiente em que vivem conter a maioria dos elementos necessários para o seu crescimento e sobrevivência (De Silva & Anderson, 1995). Deste modo, os produtos da pesca, principalmente os de origem marinha, apresentam concentrações de minerais mais elevadas do que as existentes nos animais terrestres (Pigott & Tucker, 1990; Belitz & Grosch, 1999).

No entanto, é importante não esquecer que, os teores dos diversos elementos minerais podem variar consideravelmente dentro da mesma espécie e entre espécies (Karakoltsidis *et al.*, 1995; Lall, 1995; Oehlenschläger, 1997; Martínez-Valverde *et al.*, 2000; Farkas *et al.*, 2003; Belitz *et al.*, 2004; Grag & Ramakrishna, 2006), sendo, desta forma, difícil generalizar e estabelecer concentrações médias desses elementos (Martínez-Valverde *et al.*, 2000).

As diferenças nos teores dos elementos encontrados na parte edível dos peixes são atribuídas não só a factores intrínsecos mas também a factores extrínsecos (Karakoltsidis *et al.*, 1995; Lall, 1995; Oehlenschläger, 1997; Martínez-Valverde *et al.*, 2000; Popov *et al.*, 2002; Farkas *et al.*, 2003; Belitz *et al.*, 2004; Fabris *et al.*, 2006; Capelli *et al.*, 2008). Como exemplo desses factores salienta-se a espécie e o seu ciclo biológico, idade, tamanho, sexo e estado de maturidade sexual, bem como factores ecológicos, nomeadamente a época do ano, área geográfica, tipo de alimento e disponibilidade do nutriente, temperatura e salinidade da água (Lall, 1995; Oehlenschläger, 1997; Martínez-Valverde *et al.*, 2000; Eisler, 2006; Grag & Ramakrishna, 2006; Castro-Gonzálves & Méndez-Armenta, 2008).

Diversos autores (Fabris *et al.*, 2006; McMeans *et al.* 2007; Capelli *et al.*, 2008) referem que as concentrações dos elementos essenciais são reguladas pelo peixe, pois estes compostos são utilizados para satisfazer as suas necessidades fisiológicas. Assim, as variações existentes entre as espécies podem resultar de diferentes necessidades dos elementos essenciais nos processos fisiológicos (McMeans *et al.*, 2007). No entanto, segundo McMeans *et al.* (2007), a informação disponível sobre essa regulação nos peixes marinhos é ainda insuficiente.

Carvalho *et al.* (2002) e Popov *et al.* (2002) apontam que entre os tecidos, verificam-se diferenças significativas no teor dos elementos minerais, o que pode sugerir uma deposição preferencial de alguns em determinado tecido. Assim, a concentração e a distribuição dos elementos químicos no organismo do peixe é um processo complexo que depende das propriedades físico-químicas dos próprios metais, das características bioquímicas e fisiológicas dos tecidos e órgãos, do estado fisiológico do peixe, bem como das condições abióticas do meio onde habitam.

Os metais diferem de outras substâncias tóxicas porque não podem ser sintetizados ou destruídos pelo Homem (Ramo *et al.*, 1993; Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001; Castro-Gonzálves & Méndez-Armenta, 2008). Importa referir que esses elementos metálicos podem ser removidos de um determinado ecossistema através de reacções químicas envolvendo fenómenos de precipitação, complexação ou outros (Ramo *et al.*, 1993; Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001). Contudo, estes elementos permanecerão nesse mesmo ecossistema depositados no seu sedimento, não sendo por isso destruídos (Ramo *et al.*, 1993; Mayans *et al.*, 1993; Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001).

Pode considerar-se que a contaminação do ambiente por metais tóxicos começou há cerca de 6000 anos e aumentou exponencialmente desde o início do século XX (Azcue, 1993; Nriagu, 1993). A contaminação é o resultado da descarga num determinado local de compostos em concentrações superiores ao normal. O termo poluição aplica-se quando esses compostos apresentam potencial capacidade tóxica para os seres vivos (Fraústo da Silva, 1985).

A poluição do ambiente marinho por substâncias químicas orgânicas e inorgânicas foi identificada como sendo um dos factores de maior impacto em fenómenos toxicológicos que ameaçam a sobrevivência dos organismos marinhos, incluindo os peixes (Fraústo da Silva, 1985; Al-Ghais, 1995).

As fontes poluentes dos meios aquáticos, podem ser de origem antropogénica, (Goyer, 1996; Belitz & Grosch, 1999; Goyer & Clarkson, 2001; Grag & Ramakrishna, 2006; Kosanovic *et al.*, 2007; Magalhães *et al.*, 2007; Castro-Gonzálves & Méndez-Armenta, 2008), ou de origem natural (Goyer, 1996; Belitz & Grosch, 1999; Goyer & Clarkson, 2001; Kosanovic *et al.*, 2007; Magalhães *et al.*, 2007).

O grau de poluição de origem antropogénica na água e nos sedimentos, depende da localização geográfica. Deste modo, os níveis de metais tóxicos são normalmente superiores em águas perto de zonas costeiras, uma vez que a maioria das descargas de poluentes são aí efectuadas e a densidade populacional é maior (Chang & Cockerham, 1994; Grag & Ramakrishna, 2006).

A maioria dos organismos aquáticos concentra os elementos metálicos presentes na água, nos sedimentos marinhos e na flora envolvente. A bioacumulação pelos organismos aquáticos ocorre quando a taxa de ingestão desses elementos excede a taxa de eliminação (Soto & Marigómez, 1995; Celik *et al.*, 2004; Magalhães *et al.*, 2007; DeForest *et al.*, 2007), podendo atingir limites de toxicidade que ameacem a sua sobrevivência. Esta bioacumulação pode resultar da passagem dos elementos metálicos através da superfície corporal e/ou via respiratória, cadeia alimentar ou combinação das duas formas (Depledge *et al.*, 1994; Kosanovic *et al.*, 2007).

Este fenómeno de bioacumulação é particularmente importante quando se trata de metais tóxicos, uma vez que através da cadeia alimentar dos organismos heterotróficos, esses elementos se vão acumulando nos organismos dos novos hospedeiros (Lall, 1995; Magalhães *et al.*, 2007; Storelli *et al.*, 2005<sup>a</sup>; Castro-Gonzálves & Méndez-Armenta, 2008), podendo afectar gravemente a sua saúde (Chang &



Cockerham, 1994; Depledge *et al.*, 1994; Storelli *et al.*, 2005<sup>a</sup>; Magalhães *et al.*, 2007; Castro-Gonzálves & Méndez-Armenta, 2008).

A acumulação de substâncias nocivas no pescado depende de factores endógenos do próprio peixe e das características do biótopo (Torreblanca *et al.*, 1993; Mayans *et al.*, 1993; Ramo *et al.*, 1993; Celik *et al.*, 2004; Burger *et al.*, 2005; Eisler, 2006; Magalhães *et al.*, 2007; Castro-Gonzálves & Méndez-Armenta, 2008).

Para as plantas e animais sobreviverem num habitat poluído, é essencial que distingam entre os metais essenciais, necessários às suas funções metabólicas, e os que são tóxicos. Infelizmente, o mecanismo pelo qual os metais essenciais são assimilados tem falta de especificidade e devido às semelhanças químicas entre os metais, os elementos potencialmente tóxicos podem introduzir-se nas células, utilizando as vias de entrada dos micronutrientes essenciais (Mas & Arola, 1993; Nriagu, 1993; Torreblanca *et al.*, 1993; Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001). Por exemplo, o chumbo utiliza os canais do cálcio, enquanto o arsénio (na forma de arseniatos) mimetiza bioquimicamente o fósforo (na forma de fosfatos). Uma vez assimilados, os metais tóxicos podem interagir com os elementos essenciais de uma forma sinérgica ou antagonista (Nriagu, 1993).

Muitos organismos, sobretudo os que desenvolveram mecanismos homeostáticos para regulação dos níveis de diversos metais, são agora confrontados com o novo desafio de estabelecerem estratégias alternativas de destoxificação e armazenamento dos metais antropogénicos em formas relativamente inócuas (Nriagu, 1993).

Apesar do risco da presença de metais tóxicos na cadeia alimentar, é conhecido que a toxicidade provocada por um metal no Homem poderá ser influenciada por inúmeros factores, tais como idade, sexo, estilo de vida e estado imunitário (Goyer, 1996; Belitz & Grosch, 1999; Goyer & Clarkson, 2001) e que uma dieta variada e equilibrada pode prevenir os efeitos nefastos provocados pela sua presença (Pigott & Tucker, 1990; Belitz & Grosch, 1999).

Neste sentido a prevenção da contaminação dos alimentos inclui parâmetros que não podem ser descurados (Belitz & Grosch, 1999), tais como:

- monitorização constante dos alimentos;
- determinação das fontes de contaminação;
- legislação actualizada para estabelecer níveis máximos permissíveis de contaminantes;

- envolvimento de todos os intervenientes na cadeia de produção.

#### 1.3.6.1 Elementos essenciais

Os elementos minerais, no que diz respeito à quantidade em que são utilizados pelo organismo, inclusive o humano, e que existem nos alimentos, são separados em dois grupos: macro e microelementos. Os primeiros encontram-se em quantidades elevadas (ex.: sódio, potássio, cloro, enxofre, cálcio e magnésio) e os segundos em concentrações vestigiais (ex: cobre, zinco, ferro, manganês e selénio ) (Alemany & Remesar, 1993; Chang & Cockerham, 1994; Lall, 1995; Oehlenschläger, 1997; Belitz & Grosch, 1999).

Os elementos minerais essenciais desempenham funções estruturais (por exemplo constituintes do esqueleto), intervêm na regulação de processos fisiológicos, no equilíbrio ácido-base, no balanço de fluidos, na transmissão de impulsos nervosos, bem como na contractilidade muscular (Mas *et al.* 1993; Lall, 1995; Belitz & Grosch, 1999).

Para além das funções apontadas, os elementos essenciais constituem centros activos de inúmeras metaloproteínas, onde podem desempenhar funções de transporte (ex: Fe -citocromos), funções de armazenamento (ex: Fe-ferritina; Cu-ceruloplasmina), transporte do oxigénio (Fe-hemoglobina), ou modularem enzimas envolvidas em fenómenos de catálise-ácida, catálise redox, ou de isomeria óptica e/ou estereoisomeria. Podem igualmente modular a formação de espécies reactivas de oxigénio ou participarem como centros activos de enzimas com actividade antioxidante (Mas *et al.* 1993; Dallinger, 1995<sup>b</sup>; Soto & Marigómez, 1995).

De facto muitas proteínas possuem iões de metais nos seus centros activos, sem os quais, estas moléculas perderiam as suas funções. Qualquer deficiência nestes metais provocará distúrbios na actividade metabólica normal, que só poderá ser alterada se o metal for de novo fornecido no organismo (Soto & Marigómez, 1995).

O potássio (K), o sódio (Na), o cloro (Cl), o enxofre (S), o cálcio (Ca) e o magnésio (Mg) são elementos importantes na constituição da matéria viva (Fraústo da Silva, 1985) e pelo facto de estarem presentes nas espécies estudadas, serão objecto de uma abordagem sucinta. O mesmo será feito para os microelementos zinco (Zn), cobre (Cu), Ferro (Fe), Manganês (Mn) e Selénio (Se).

### 1.3.6.1.1 Macroelementos essenciais

#### 1.3.6.1.1.1 Potássio (K), sódio (Na) e cloro (Cl)

Normalmente, o teor de sódio no pescado é relativamente baixo (Pigott & Tucker, 1990; Huss, 1995; Oehlenschläger, 1997; Martínez-Valverde *et al.*, 2000) o que o torna um alimento ideal para qualquer regime alimentar, mas sobretudo para consumidores que necessitem de uma dieta com baixos teores deste mineral (Huss, 1995; Martínez-Valverde *et al.*, 2000). Segundo diversos autores (Lall, 1995; Belitz & Grosch, 1999), a concentração de potássio, na parte edível dos peixes marinhos e de água doce, é sempre superior à de sódio. O cloro é um mineral abundante no músculo do peixe, no entanto existem poucos dados sobre a sua distribuição nos diferentes tecidos (Lall, 1995).

Os elementos com funções electroquímicas ocorrem nos meios biológicos sob a forma de catiões  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  e de aniões  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  (Fraústo da Silva, 1985; Pigott & Tucker, 1990; Lall, 1995; Belitz & Grosch, 1999).

Geralmente, verifica-se que a concentração intracelular de potássio é superior à do meio extracelular, passando-se o inverso com a concentração em sódio (Fraústo da Silva, 1985; Pigott & Tucker, 1990; Lall, 1995; Belitz & Grosch, 1999, Belitz *et al.*, 2004; IOM, 2004). O sódio (Na) e o cloro (Cl) são, respectivamente, o principal catião e anião extracelular no corpo humano. Numa base molar os teores de cloro e de sódio necessários na dieta alimentar são equivalentes (Belitz *et al.*, 2004, IOM, 2004).

Os gradientes de concentração são determinados por um mecanismo de transporte activo, designado por bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , atendendo a que o movimento destes iões está relacionado entre si (IOM, 2004). Tal como uma pilha electroquímica de concentração, aquela diferença de concentrações corresponde a uma energia que pode ser aplicada em vários fenómenos. Está na base da excitabilidade das células nervosas (associada à perda de  $\text{K}^+$  e ao ganho de  $\text{Na}^+$ ) e do fenómeno de contracção muscular (associada às concentrações de  $\text{Mg}^{2+}$  e  $\text{Ca}^{2+}$ ), e determina o transporte activo de glúcidos e aminoácidos (Pigott & Tucker, 1990; Lall, 1995). Por outro lado, o ião cloreto serve de contra-ião ao sódio no fluído extracelular e aos iões de hidrogénio no suco gástrico (Belitz *et al.*, 2004).

O sódio é essencial na osmoregulação, no balanço ácido-base, no transporte activo através das membranas celulares e seu potencial (Lall, 1995; Belitz *et al.*, 2004; IOM, 2004) bem como na activação de algumas enzimas, como a amilase (Belitz *et al.*, 2004). O cloro é indispensável na manutenção do balanço electrolítico (Lall, 1995;

Belitz *et al.*, 2004; IOM, 2004), participando ainda em funções neuromusculares (De Silva & Anderson, 1995; Lall, 1995). O potássio actua como catião monovalente no balanço intracelular dos aniões e participa nas funções neuromusculares (Lall, 1995; Belitz *et al.*, 2004, IOM, 2004) e está envolvido na activação de enzimas (Belitz *et al.*, 2004).

Os sintomas clínicos que podem advir de um consumo deficiente de potássio não são frequentes. No entanto, uma deficiência severa deste elemento pode provocar hipocaliémia, caracterizada por fraqueza muscular, arritmia cardíaca e intolerância à glucose (IOM, 2004). Por outro lado, um excesso pode potenciar o aparecimento de hipercaliémia. Um excesso do consumo de sódio está associado ao aumento da pressão sanguínea (Pigott & Tucker, 1990; Belitz & Grosch, 1999; IOM, 2004), fraqueza e decréscimo do volume extracelular de fluidos (Stults, 1981). As perdas de cloro usualmente acompanham as de sódio. Desta forma a sintomatologia provocada pela deficiência ou excesso de sódio está também associada à de cloro. Apesar de rara, uma deficiência em cloro está associada a uma hipocloremia (IOM, 2004).

#### **1.3.6.1.1.2 Enxofre (S)**

Os peixes contêm quantidades elevadas de enxofre sendo, em regra, esta semelhante à de fósforo (Oehlenschläger, 1997).

Os teores requeridos na dieta alimentar estão relacionados com as necessidades de aminoácidos que possuem enxofre (Belitz *et al.* 2004).

A maioria do enxofre no corpo do animal ocorre nas proteínas que contêm o aminoácido cisteína e metionina. As vitaminas biotina (B<sub>7</sub>) e tiamina (B<sub>1</sub>), a hormona insulina e o importante metabolito coenzima A também contêm enxofre. O componente estrutural sulfato de condroitina, que contem enxofre, é um componente da cartilagem, ossos, tendões e das paredes dos vasos sanguíneos. Os componentes que possuem enxofre são também importantes elementos no processo respiratório da hemoglobina através dos citocromos. Apenas uma pequena quantidade de enxofre está presente sob a forma inorgânica embora se saiba da ocorrência de sulfatos no sangue em pequenas quantidades (McDonald *et al.*, 2002).

#### **1.3.6.1.1.3 Cálcio (Ca) e magnésio (Mg)**

A maioria do cálcio no peixe encontra-se no esqueleto, ósseo ou cartilaginoso, normalmente designado por “espinhas”, e nas escamas (De Silva & Anderson, 1995;

Lall, 1995; Martínez-Valverde *et al.* 2000; Belitz *et al.*, 2004). Assim, devido à presença reduzida de “espinhas” no tecido muscular do peixe, este elemento encontra-se em escassa quantidade (Lall, 1995; Simopoulos, 1997; Martínez-Valverde *et al.* 2000; Tahvonen *et al.*, 2000). No entanto, Simopoulos (1997) refere que o teor de cálcio é superior na fracção muscular do peixe quando comparado com o existente na carne.

Durante períodos de jejum do peixe, essas estruturas (“espinhas”) fornecem o cálcio, mediante reabsorção, necessário ao pleno funcionamento do organismo animal (De Silva & Anderson, 1995; Alves & Wood, 2006).

Tal como o cálcio, uma grande quantidade de magnésio existente no peixe está presente nas “espinhas” e escamas (De Silva & Anderson, 1995; Martínez-Valverde *et al.* 2000; Belitz *et al.*, 2004). Usualmente, o peixe contém mais magnésio que cálcio (Oehlenschläger, 1997).

De um modo geral, verifica-se que as células vivas são ricas em magnésio e pobres cálcio, relativamente ao meio em que se encontram (Fraústo da Silva, 1985). O cálcio interage com o magnésio inibindo a sua absorção (Goyer & Clarkson, 2001).

No que concerne a estruturas de suporte, o cálcio, sobretudo na forma de compostos inorgânicos pouco solúveis ( $\text{CaCO}_3$ ;  $\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$ ;  $\text{Ca}_{10}\text{F}_2(\text{PO}_4)_6$ ;  $\text{CaC}_2\text{O}_4$ ;  $\text{CaSO}_4$ ), entram na constituição de tecidos, membranas, esqueletos, e estruturas afins (Stults, 1981; Fraústo da Silva, 1985; Pigott & Tucker, 1990; Lall, 1995; Belitz & Grosch, 1999).

Para além desta função, o cálcio é activador e estabilizador de enzimas, promotor ou detonador e interruptor de determinadas reacções ou mecanismos de controlo (Fraústo da Silva, 1985; Halliwell & Gutteridge, 2007).

O cálcio está envolvido, por exemplo, na contracção muscular (Wilkins & Wilkins, 1997; Belitz & Grosch, 1999; Belitz *et al.*, 2004), transmissão nervosa e na regulação da pressão sanguínea (Pigott & Tucker, 1990; Wilkins & Wilkins, 1997; Belitz *et al.*, 2004) e osmorregulação (De Silva & Anderson, 1995; Halliwell & Gutteridge, 2007).

O magnésio é um elemento activador de enzimas (Mas *et al.* 1993; Lall, 1995; Goyer, 1996; Wilkins & Wilkins, 1997; Belitz & Grosch, 1999; Goyer & Clarkson, 2001; Belitz *et al.*, 2004) nas funções nervosas e musculares (Pigott & Tucker, 1990; Lall, 1995; Wilkins & Wilkins, 1997), estabilizador das membranas plasmáticas, membranas intracelulares e nos ácidos nucleicos (Lall, 1995; Wilkins & Wilkins, 1997; Belitz & Grosch, 1999; Belitz *et al.*, 2004).

O excesso ou deficiência dos elementos essenciais na dieta alimentar pode causar algumas perturbações ou doenças. O excesso de cálcio está associado ao espessamento dos ossos e calcificações de cartilagens, cálculos urinários e paragem cardíaca. Por seu lado, a sua deficiência provoca excitabilidade neuromuscular, tetania e enfraquecimento da massa óssea (Stults, 1981; Fraústo da Silva, 1985), podendo mesmo contribuir para a osteoporose, e pensa-se que pode estar igualmente relacionado com o aumento da pressão arterial (Pigott & Tucker, 1990).

O excesso de magnésio, provocado, por exemplo, pelo consumo de medicamentos contendo muito Mg, está associado a diarreia, vómitos, hipotensão (Goyer & Clarkson, 2001) e depressão do sistema nervoso central e periférico (Fraústo da Silva, 1985). A sua deficiência provoca alterações a nível neuromuscular, tetania, convulsões (Fraústo da Silva, 1985; Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001), acidentes cardiovasculares (Fraústo da Silva, 1985), anorexia e deficiências no crescimento (Stults, 1981).

#### **1.3.6.1.2 Microelementos essenciais**

Os microelementos essenciais, apesar de estarem presentes nos organismos em concentrações vestigiais, são fundamentais e sem eles a vida não era possível (Fraústo da Silva, 1985; Pigott & Tucker, 1990; Alemany & Remesar, 1993; Lall, 1995). Por outro lado, em certos níveis de concentração são potencialmente tóxicos (Pigott & Tucker, 1990; Alemany & Remesar, 1993).

A maioria está associada ao funcionamento das enzimas, sobretudo as que envolvem reacções catalíticas ácido-base e reacções redox, mas podem estar igualmente envolvidos em outras metalobiomoléculas que não funcionam como enzimas, o que acontece, por exemplo, com a hemoglobina, que transporta o oxigénio no sangue, ou a mioglobina, que o armazena no músculo. Outros estão ainda associados a processos hormonais, como o iodo, que é um constituinte de hormonas da tiróide, como por exemplo a tiroxina e a tri-iodotironina (Pigott & Tucker, 1990; Fraústo da Silva, 1985).

Grande parte das reacções biológicas é catalisada e essa catálise é assegurada por determinadas proteínas designadas por enzimas. Muitas dessas enzimas contêm metais ou complexos de metais firmemente ligados (metaloenzimas) ou são activadas por metais não fortemente ligados às proteínas (Fraústo da Silva, 1985). Os microelementos estudados são centros activos de inúmeras enzimas que, no Homem, asseguram a grande maioria de reacções metabólicas e fisiológicas.

#### 1.3.6.1.2.1 Zinco (Zn)

Muitos autores tem publicado dados de cobre (Cu) e zinco (Zn) no peixe (Vas, 1991; Vas *et al.*, 1993; Lall, 1995; Oehlenschläger, 1997; Cronin *et al.*, 1998; Tahvonen *et al.*, 2000; Mormede & Davies, 2001; Çelik & Oehlenschläger, 2004, 2005, 2007; Dalman *et al.*, 2006; Grag & Ramakrishna, 2006; Nunes *et al.*, 2006; McMeans *et al.*, 2007; Sivaperumal *et al.*, 2007; Capelli *et al.*, 2008). A maioria das espécies de peixe contêm quantidades moderadas de zinco (Simopoulos, 1997), no entanto, Lall (1995) refere que o tecido muscular do peixe é considerado, de uma forma geral, uma fonte recomendada de zinco (Zn), quando comparado, por exemplo, com o tecido muscular dos animais domésticos. De acordo com Oehlenschläger (1997) o teor de zinco varia pouco entre as diferentes espécies de peixe.

A essencialidade do zinco e do cobre para a vida animal (incluindo os seres humanos) está cientificamente comprovada (Goyer & Clarkson, 2001; Sivaperumal *et al.*, 2007). O carácter terapêutico do zinco encontra-se relatado desde o início do século XIX, ao utilizarem-se pomadas, contendo óxido de zinco, em tratamentos de pele (Mas, 1993).

O zinco é parte integrante de metaloenzimas (Lall, 1995; Goyer & Clarkson, 2001; Halliwell & Gutteridge, 2007), a maior parte das quais se encontra envolvida em reacções de catálise ácido-base e que são denominadas hidrolases (Lall, 1995). Este metal é centro activo de mais de 90 enzimas (ex: aminopeptidases, carbopeptidases, anidrase carbónica) (Mas, 1993; Lall, 1995; Belitz & Grosch, 1999; Belitz *et al.*, 2004) nas quais o zinco actua como ácido de Lewis (Fraústo da Silva, 1985; Mas *et al.*, 1993). Faz igualmente parte de enzimas denominadas “zinc fingers – dedos de zinco” envolvidas na síntese do ADN (ácido desoxirribonucleico) e ARN (ácido ribonucleico) (Mas, 1993; Wilkins & Wilkins, 1997; Goyer & Clarkson, 2001; Halliwell & Gutteridge, 2007).

Uma dieta com um excesso de zinco provoca anorexia, raquitismo, paraqueratose, alopecia, hipogonadismo e dificuldades de cicatrização. A sua deficiência provoca a febre dos fumos metálicos (febre e tremores), carência de aminoácidos no processo de nutrição que pode ter como consequência deficiências ósseas, anemia e alterações no crescimento (Mas, 1993; Goyer & Clarkson, 2001; Sivaperumal *et al.*, 2007). São igualmente relatadas relações com o quadro de cirrose hepática e alterações teratogénicas, (Mas, 1993; Sivaperumal *et al.*, 2007), retardamento

sexual no sexo masculino, diminuição da resposta imunitária e doenças de pele (Mas, 1993; Goyer & Clarkson, 2001).

#### **1.3.6.1.2.2 Cobre (Cu)**

Os níveis de cobre são mais elevados no músculo do peixe quando comparado com o teor apresentado no tecido muscular dos animais domésticos (Lall, 1995). Por outro lado, o músculo escuro dos peixes apresenta valores superiores de cobre, cerca de três vezes superiores, quando comparados com o músculo claro (Lall, 1995). Contrariamente ao verificado no zinco, o teor de cobre varia muito entre as diferentes espécies de peixe (Oehlenschläger, 1997).

Tal como o zinco, o cobre é centro activo de inúmeras metaloenzimas, estando estas envolvidas em reacções de catálise redox (oxiredutases) (De Silva & Andersen, 1995; Lall, 1995; Goyer & Clarkson, 2001; Belitz *et al.*, 2004; Çelik & Oehlenschläger, 2004 e 2005; Sivaperumal *et al.*, 2007). Intervêm também em enzimas (oxidases) que asseguram o transporte de oxigénio na cadeia de citocromos dos organismos aeróbios (citocromo c oxidase) e que são responsáveis pela respiração a nível mitocondrial. O cobre faz igualmente parte de enzimas com actividade antioxidante (ex: superóxido-dismutase), que intervêm no combate a espécies reactivas de oxigénio (Wilkins & Wilkins, 1997; Belitz & Grosch, 1999; Goyer & Clarkson, 2001, Belitz *et al.*, 2004; Halliwell & Gutteridge, 2007).

Uma dieta deficiente em cobre pode provocar no Homem, por exemplo, anemia (deficiente incorporação do ferro na transferrina e nos reticulócitos), síndrome de Menke's em crianças (Wilkins & Wilkins, 1997; Goyer & Clarkson, 2001; Halliwell & Gutteridge, 2007; Sivaperumal *et al.*, 2007), queratinização e pigmentação deficiente (produção deficiente de melanina). Um excesso, por seu lado, provoca, entre outras, a chamada doença de Wilson (Wilkins & Wilkins, 1997; Goyer & Clarkson, 2001), para além de necrose hepática, cirrose e crises hemolíticas (Fraústo da Silva, 1985; Goyer & Clarkson, 2001).

#### **1.3.6.1.2.3 Ferro (Fe)**

O teor em ferro no peixe é muito baixo comparado com o dos mamíferos. Tal como no cobre, o músculo escuro dos peixes apresenta valores superiores de ferro, cerca de três vezes superiores, em comparação com o músculo claro (Lall, 1995).



A informação sobre a absorção e metabolismo deste elemento no peixe é muito limitada, mas o processo é, de uma forma geral, semelhante ao dos vertebrados (Watanabe *et al.*, 1997). Por outro lado, pouco se sabe também acerca das formas de ferro presentes no peixe. No entanto, uma considerável proporção está sem dúvida presente no grupo prostético heme (porfirina com um átomo de ferro), mioglobina e uma porção na hemoglobina (Lall, 1995).

O ferro está presente em todas as células dos organismos vivos e desempenha um papel vital em diversas reacções bioquímicas (Lall, 1995; Halliwell & Gutteridge, 2007).

A maioria do ferro existente nos organismos está presente não só na hemoglobina (sangue) e mioglobina (tecido muscular) (Pigott *et al.*, 1990; Belitz & Grosch, 1999; Goyer & Clarkson, 2001; IOM, 2001; Belitz *et al.*, 2004; Halliwell & Gutteridge, 2007), mas também nos citocromos e outras proteínas onde desempenha um papel importante no transporte, armazenagem e utilização do oxigénio (Lall, 1995). Este metal está também presente em inúmeras enzimas (peroxidase, catalase, hidroxilase, entre outras) sendo desta forma um componente essencial da dieta alimentar (Belitz & Grosch, 1999; Belitz *et al.*, 2004).

Geralmente o ferro está presente nos alimentos na forma inorgânica, como componentes ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ) e férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ), e na forma orgânica, sendo o mais importante o ferro na forma heme (Lall, 1995; Halliwell & Gutteridge, 2007).

A forma heme e não-heme têm diferentes mecanismos de absorção (Lall, 1995; Halliwell & Gutteridge, 2007). A primeira está biodisponível e é pouco afectada por factores da dieta e a segunda, forma não-heme, é dependente da solubilização do ião de ferro existente no alimento (IOM, 2001).

A principal fonte de ferro na dieta é a carne, com uma absorção entre 20-30 %, a absorção de ferro proveniente do peixe é de cerca de 5,9 % enquanto a dos vegetais, cereais e leite é a mais baixa com cerca de 1,0 a 1,5 %. Esta variação deve-se à forma em que o ferro se apresenta nos alimentos, compostos orgânicos de ferro vs sais simples/inorgânico (Belitz & Grosch, 1999; Belitz *et al.*, 2004), sendo esta última forma a menos absorvida (Lall, 1995).

O ácido ascórbico potencia a absorção de ferro ao passo que, por exemplo, um alto teor de fitato, existente por exemplo no pão, interfere na sua absorção (Belitz & Grosch, 1999; Goyer & Clarkson, 2001; IOM, 2001; Belitz *et al.*, 2004; Halliwell & Gutteridge, 2007). Nos organismos saudáveis, aparentemente, a absorção de ferro

presente nos alimentos é regulada pelas necessidades do organismo (Pigott *et al.*, 1990; Belitz & Grosch, 1999; Belitz *et al.*, 2004). Diversos estudos em ratos e galinhas mostraram que o sulfato ferroso ( $\text{FeSO}_4$ ) é a forma mais disponível de ferro (Belitz *et al.*, 2004).

A hemoglobina transporta o oxigénio e o dióxido de carbono, respectivamente, para e dos tecidos, deste modo, uma deficiência em ferro leva a um decréscimo da produção de heme, originando um menor fornecimento de oxigénio ao músculo que resulta em anemia e sintomas de falta de energia (Pigott *et al.*, 1990; IOM, 2001; Halliwell & Gutteridge, 2007). Um excesso não está associado ao consumo de alimentos numa dieta normal mas sim associado, por exemplo, a uma ingestão excessiva de suplementos, anormal absorção de ferro pelo tracto intestinal e a transfusões de sangue (Goyer & Clarkson, 2001)

#### **1.3.6.1.2.4 Manganês (Mn)**

A quantidade de manganês presente nos animais é extremamente baixa (McDonald *et al.*, 2002). Concentrações mais elevadas são encontradas nos ossos/"espinhas", no entanto, também pode ser encontrado no fígado, rim, pâncreas, glândula pituitária (McDonald *et al.*, 2002), músculo, gónadas e pele (Lall, 1995).

Os produtos da pesca não são uma boa fonte manganês (Pigott *et al.*, 1990). Este elemento está distribuído uniformemente pelo corpo do animal, apresentando apenas pequenas variações na sua concentração e não se acumula com a idade (Sivaperumal *et al.*, 2007).

O manganês está envolvido na formação dos ossos e aminoácidos e no metabolismo dos lípidos (colesterol) e hidratos de carbono (IOM, 2001).

Funciona tanto como cofactor, activando uma série de enzimas na formação dos complexos metaloenzimas, como parte integral de certas metaloenzimas (Lall, 1995; Goyer & Clarkson, 2001). É activador do piruvato carboxilase (McDonald *et al.*, 2002) e manganês superóxido dismutase (Goyer & Clarkson, 2001; McDonald *et al.*, 2002, Halliwell & Gutteridge, 2007) e, tal como outros iões divalentes, é activador de enzimas, como por exemplo arginase, amino peptidase, fosfatase alcalina, lectinase ou enolase.

Visto que a química do ião de manganês é semelhante à do ião de magnésio, muitas enzimas, incluindo o piruvato carboxilase (IOM, 2001), podem ser activadas por ambos os iões. No entanto, o manganês é activador específico de algumas enzimas

como por exemplo a glicosiltransferase (Lall, 1995; IOM, 2001). O manganês inibe a absorção de ferro (Lall, 1995).

Só uma pequena quantidade de manganês é absorvida na dieta alimentar (IOM, 2001), desta forma, mesmo em concentrações elevadas, é relativamente não tóxico (Belitz & Grosch, 1999; Belitz *et al.*, 2004). O tempo de semi-vida no organismo humano é de cerca de 37 dias. Este elemento passa a barreira sanguínea e cerebral e o tempo de semi-vida no cérebro é maior que no resto do corpo (Goyer & Clarkson, 2001).

A sua deficiência em animais pode causar anormalidades no crescimento, má formação óssea e, entre outros sintomas, distúrbios na função reprodutora (Goyer & Clarkson, 2001; IOM, 2001; McDonald *et al.*, 2002; Sivaperumal *et al.*, 2007). Apesar da deficiência deste elemento poder contribuir para o aparecimento de alguns sintomas, uma deficiência clínica não está associada a uma dieta pobre neste elemento em indivíduos saudáveis (IOM, 2001). Por outro lado, existem poucos casos relacionados com efeitos tóxicos provocados por uma ingestão excessiva deste composto sendo a sua toxicidade resultante da sua inalação crónica (Goyer & Clarkson, 2001).

#### **1.3.6.1.2.5 Selénio (Se)**

A carne e os produtos da pesca são fontes de selénio. Estes contêm selénio na sua forma funcional, selenoproteínas (selenometionina e selenocisteína) (IOM, 2000; Goyer & Clarkson, 2001). Virtualmente, todas as proteínas animais contêm selenometioninas que são obtidas através do consumo de plantas (IOM, 2000).

Comparativamente com a carne vermelha e de aves, o peixe contém mais selénio e é considerado a melhor fonte deste elemento na dieta (Lall, 1995; Shen *et al.*, 1997). Este microelemento está presente em todas as espécies de peixe, sendo as espécies marinhas a sua melhor fonte (Oehlenschläger, 1997).

O selénio existente no peixe provém da água e da dieta alimentar (Watanabe *et al.*, 1997). O mínimo de Se exigido na dieta do peixe está dependente do nível de vitamina E e, de um modo geral, varia entre 0,2 a 0,5 mg/kg.

Ironicamente, até há 40 anos atrás, o selénio era conhecido unicamente como tóxico. Actualmente sabe-se que este é essencial para o funcionamento normal de muitos sistemas no organismo e que a sua deficiência pode trazer consequências adversas (Raymond & Ralston, 2004).

Dos vinte e dois aminoácidos primários dois são distinguidos por possuírem selénio: selenometionina e a selenocisteína (Raymond & Ralston, 2004; O'Brien *et al.*, 2006). A selenometionina, que não pode ser sintetizada pelos organismos, incluindo o humano, mas inicialmente sintetizada pelas plantas (IOM, 2000), é bioquimicamente equivalente à metionina e é considerada um compartimento não regulado de armazenagem de selénio. Contrariamente, a selenocisteína é muito regulada e incorporada especificamente em numerosas proteínas para desempenhar funções biológicas essenciais (IOM, 2000; Raymond & Ralston, 2004).

Assim, dentro de uma gama específica de ingestão de selénio na dieta a concentração de selenoproteínas no organismo depende da quantidade de selénio ingerida (IOM, 2000).

O selénio é um elemento essencial em alguns processos de oxidação-redução e é um componente integral da enzima glutathione peroxidase (GSH-Px) (Lall, 1995; Watanabe *et al.*, 1997; Goyer & Clarkson, 2001; Halliwell & Gutteridge, 2007; Sivaperumal *et al.*, 2007; Lavilla *et al.*, 2008) nos tecidos humanos e animais, que, conjuntamente com a vitamina E, enzimas catalase (Fe) e superóxido dismutase (Cu, Mn, Zn), funciona como antioxidante, protegendo desta forma as células do dano oxidativo (Lall, 1995; Halliwell & Gutteridge, 2007). A glutathione peroxidase remove o peróxido de hidrogénio (De Silva & Andersen, 1995; Watanabe *et al.*, 1997; Halliwell & Gutteridge, 2007; Sivaperumal *et al.*, 2007) e outros hidroperóxidos que oxidam as várias moléculas na célula como os ácidos gordos insaturados (De Silva & Andersen, 1995; Watanabe *et al.*, 1997; Sivaperumal *et al.*, 2007).

Protege as membranas da destruição oxidativa catalisando a seguinte reacção:



(Belitz *et al.*, 1999; Belitz *et al.*, 2004; Halliwell & Gutteridge, 2007).

O selénio actua sinergeticamente com a actividade do tocoferol (Watanabe *et al.*, 1997; IOM, 2000; Halliwell & Gutteridge, 2007). Estudos em animais, provaram que uma indução de deficiência em vitamina E e selénio causa lipoperoxidação, necrose no fígado e danos cardíacos (IOM, 2000).

Por outro lado, o selénio reduz a toxicidade do metilmercúrio (Lall, 1995; Raymond & Ralston, 2004; Gailer, 2007; Sivaperumal *et al.*, 2007), do arsénio (Peraza

*et al.*, 1998; Kotsonis *et al.*, 2001; ATSDR, 2007) e do cádmio (Pigott & Tucher, 1990; De Silva & Andersen, 1995; Watanabe *et al.*, 1997; Sivaperumal *et al.*, 2007), e desta forma uma deficiência deste elemento acentua a toxicidade provocada por esses metais.

A sua deficiência está também relacionada com a doença de *Keshan* em crianças (ocorrência de cardiomiopatia) (IOM, 2000; Goyer & Clarkson, 2001; Halliwell & Gutteridge, 2007) e associada à doença de *Kashin-Beck* (doença endémica na cartilagem que ocorre no período de pré-adolescência e adolescência) (IOM, 2000; Halliwell & Gutteridge, 2007). O selénio pode actuar como factor de crescimento, possui propriedades anti-cancerígenas, contribui para o normal funcionamento da homeostasia da hormona da tiróide, imunidade e fertilidade (IOM, 2000; Raymond & Ralston, 2004).

Embora a toxicidade proveniente de um consumo crónico excessivo de selénio tenha sido verificada, no ser humano a sua ocorrência é rara. Os sinais clínicos incluem cáries dentárias (Lall, 1995; Raymond & Ralston, 2004; Sivaperumal *et al.*, 2007), perda de brilho das unhas e cabelo, anormalidades no sistema nervoso (IOM, 2000; Goyer & Clarkson, 2001; Raymond & Ralston, 2004).

Lemly (2002) descreveu a bioquímica base da toxicidade do selénio como sendo uma simples mas importante falha no processo da síntese das proteínas devido a semelhanças químicas e físicas entre o selénio e o enxofre. Estudos em mamíferos demonstraram que as células não distinguem o selénio do enxofre aquando da síntese proteica. Assim, quando em concentrações elevadas, o selénio substitui o enxofre erroneamente e forma uma ligação tri-selénio (Se-Se-Se) ou uma ligação seleno-dissulfito (S-Se-S) e ambas impedem a formação química das ligações essenciais dissulfito (S-S). Como resultado são formadas proteínas disfuncionais e distúrbios da bioquímica celular normal.

No peixe, a deficiência de Se está associada a uma diminuição do crescimento, letargia, perda de apetite entre outros sintomas (Watanabe *et al.*, 1997). Por outro lado, a intoxicação crónica é caracterizada por, entre outros sintomas, alterações patológicas do fígado, rim, coração e ovários, aumento dos linfócitos, anemia, anomalias na reprodução e deformações teratogénicas (Lemly, 2002).

### **1.3.6.2 Elementos tóxicos**

Até este momento foi apresentado sumariamente o papel desempenhado pelos elementos químicos nas estruturas biológicas constituintes dos organismos vivos.

Contudo, são conhecidas as propriedades tóxicas dos metais, sobretudo de alguns metais de transição, que muitas vezes entram no organismo humano pela cadeia alimentar.

No que diz respeito a estes iões metálicos, grande parte das reacções químicas explicativas da sua toxicidade a nível celular dizem respeito a reacções com formação de transferência electrónica, formação de radicais livres oxigenados e influência nas cadeias do DNA, com as possíveis consequências de fenómenos de mutagenicidade, teratogenicidade, genotoxicidade e carcinogenicidade (Halliwell & Gutteridge, 1996 e 2007).

As razões principais determinantes da toxicidade dos elementos derivam do facto de muitos destes poderem substituir os metais nos centros activos das enzimas, ligar-se a outros radicais das enzimas e demais moléculas biológicas, substituir determinados grupos nas moléculas biológicas, complexar ou formar precipitados com metais das enzimas ou outros grupos envolvidos no metabolismo, catalisar a decomposição de metabolitos essenciais, combinar-se com membranas, alterando a sua permeabilidade, e substituir elementos com funções electroquímicas (Fraústo da Silva, 1985; Ramo *et al.* 1993; Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001).

É curioso verificar que os elementos mais tóxicos, quer para os animais quer para as plantas, são elementos que formam os seus complexos mais estáveis com ligandos polarizáveis, designadamente grupos tiol (Fraústo da Silva, 1985).

O mercúrio, cádmio, chumbo e arsénio são tóxicos cumulativos que podem ser assimilados, armazenados e concentrados pelos organismos vivos, através da cadeia alimentar, originando efeitos fisiológicos por vezes graves (Fraústo da Silva, 1985; Pigott & Tucker, 1990; Ruiter, 1995; Goyer & Clarkson, 2001; Eisler, 2006). Os animais são normalmente mais sensíveis à contaminação por metais tóxicos do que as plantas, sendo o ser humano considerado, universalmente, o mais sensível bem como a espécie alvo mais importante (Chang & Cockerham, 1994).

No ser humano a ingestão de alimentos pode representar a maior fonte de exposição a estes metais. Essa exposição pode ser através do consumo accidental do metal ou da bioacumulação via cadeia alimentar (Chang & Cockerham, 1994; Eisler, 2006; Sivaperumal *et al.*, 2007) e os sinais toxicológicos são dependentes de inúmeros factores relacionados com o metal e com o hospedeiro (Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001).

No metal deverá ser tida em conta a especiação (forma orgânica ou inorgânica), o número de oxidação, o tipo de ligandos com os quais, preferencialmente, se tende a

ligar (complexos metalo-proteicos), o tipo de ligação química que forma e a interacção com os metais essenciais (Fenton, 1997).

No Homem, factores como a constituição genética, idade e estado de desenvolvimento, estado imunológico e os factores ambientais que condicionam a sua alimentação e tipo de vida, são de importância vital (Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001; Balshaw *et al.*, 2008).

A especiação do metal é, sem dúvida, um dos factores de maior importância. Compostos alquilo são lipossolúveis e passam rapidamente através das membranas biológicas inalteradas pelo seu meio circundante. Por serem lentamente desalquilados ou transformados em sais inorgânicos, a sua excreção tende a ser mais lenta do que as formas inorgânicas, pelo que o padrão de toxicidade das formas orgânicas tende a diferir do das formas inorgânicas, sendo na maioria dos casos muito superior (Miura *et al.*, 1995).

A maioria dos sais inorgânicos dos metais de transição são nefrotóxicos e produzem diversos graus de danos no rim. Alguns desses metais, inseridos em compostos de natureza orgânica são neurotóxicos (Chang & Cockerham, 1994).

Para se avaliar a importância do estudo do teor de alguns dos elementos tóxicos nas partes edíveis das espécies estudadas, é feita, de seguida, uma breve abordagem ao mercúrio, cádmio, chumbo e arsénio.

#### **1.3.6.2.1 Mercúrio (Hg)**

Em termos de contaminação antropogénica, a maior preocupação até há poucos anos, era a contaminação provocada pelas indústrias produtoras de cloro e de soda que usavam células de mercúrio. Apesar deste tipo de fábricas ter desaparecido, este metal permanece nos sedimentos e tem vindo a ser complementado por outras fontes poluentes, com especial destaque para as fábricas de produtos eléctricos (lâmpadas, baterias, entre outros), agricultura (desinfectantes e fungicidas), odontologia, extracção de minérios e tintas (Fraústo da Silva, 1985; Azcue, 1993; Navarro-Pedreño *et al.*, 1993; Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001; Eisler, 2006; Castro-González & Méndez-Armenta, 2008). No entanto, a maior fonte de mercúrio no ambiente é proveniente de fontes naturais (Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001; Eisler, 2006).

O mercúrio é reconhecido como um elemento extremamente tóxico para os seres vivos. Este facto deve-se à possibilidade de inactivação de enzimas, contendo grupos coordenantes com elevada afinidade para os iões deste elemento (especialmente grupos

sulfidrilo) e também a efeitos sobre a permeabilidade de membranas celulares (Fraústo da Silva, 1985; Ramo *et al.*, 1993; Wilkins & Wilkins, 1997; Eisler, 2006).

Nenhum outro metal ilustra melhor a diversidade de efeitos causada pelas diferentes espécies químicas do que o mercúrio. Na base da especiação química, existem três formas de mercúrio: composto elementar, formas inorgânicas e formas orgânicas, cada uma das quais com as suas características toxicocinéticas e efeitos na saúde (Ramo *et al.*, 1993; Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001; Eisler, 2006).

A toxicidade de várias formas ou sais de mercúrio está relacionada com o mercúrio catiónico *per se*, ao passo que a solubilidade, biotransformação e distribuição nos tecidos são influenciados pelo estado de valência e pelos componentes aniônicos (Ramo *et al.*, 1993; Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001).

Os sais de mercúrio orgânico e inorgânico são mais tóxicos do que o mercúrio elementar (Navarro-Pedreño *et al.*, 1993).

Do mercúrio inorgânico, o ião mercúrico é mais tóxico (toxicidade renal) do que o ião mercurioso (dermatóxico), uma vez que os seus sais são menos solúveis. Os sais orgânicos de mercúrio, nomeadamente o metilmercúrio que é o mais lipossolúvel, provocam reacções toxicológicas mais intensas, sendo potentes neurotóxicos (Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001; Eisler, 2006).

O vapor de mercúrio difunde-se rapidamente através da membrana alveolar. Por ser lipossolúvel apresenta uma afinidade para os glóbulos vermelhos e para o sistema nervoso central (SNC). O mercúrio metálico é apenas lentamente absorvido pelo tracto gastro-intestinal (0,01 %) e é geralmente referido como não tendo consequências tóxicas (Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001; Eisler, 2006).

O mercúrio elementar ou metálico é oxidado a mercúrio bivalente, após a absorção nos tecidos, e esse fenómeno é provavelmente mediado pelas catalases. O mercúrio elementar apresenta toxicidade renal e a nível do SNC (Chang & Cockerham, 1994; Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001; Eisler, 2006; Hajeb *et al.*, 2009), já que é relativamente lipossolúvel (Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001; Eisler, 2006), embora essa afinidade seja menor que a do metilmercúrio (Chang & Cockerham, 1994; Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001; Eisler, 2006).

A exposição aguda provocada pela inalação de vapor de mercúrio pode provocar bronquite e pneumonia, chegando mesmo a ser fatal. Estes efeitos podem ser associados a lesões do sistema nervoso central (Ramo *et al.*, 1993; Torreblanca *et al.*, 1993; Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001; Eisler, 2006).



Os sais de mercúrio inorgânico podem ser bivalentes (mercúricos) ou monovalentes (mercurosos) (Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001; Eisler, 2006).

O ião mercúrico ( $\text{Hg}^{2+}$ ) apresenta uma elevada actividade para os ligandos contendo grupos sulfidrilo (Halliwell & Gutteridge, 1996, 2007; Eisler, 2006; Hajeb *et al.*, 2009), inibindo fortemente a actividade das enzimas contendo grupos  $-\text{SH}$  (Halliwell & Gutteridge, 1996, 2007).

A membrana das células renais é o primeiro alvo de toxicidade do ião  $\text{Hg}^{2+}$  (Miura *et al.*, 1995; Halliwell & Gutteridge, 2007; Hajeb *et al.*, 2009). O facto do ião  $\text{Hg}^{2+}$  não afectar a permeabilidade das membranas por ligação aos fosfolípidos, pode significar que os processos patológicos que ocorrem a esse nível, afectando o teor de água e electrólitos, estão relacionados com os constituintes proteicos membranares. Por outro lado, o ião  $\text{Hg}^{2+}$  induz o fenómeno de peroxidação lipídica a qual é normalmente acompanhada pelo decréscimo da concentração renal de glutathione peroxidase (Miura *et al.*, 1995; Halliwell & Gutteridge, 2007).

O cloreto de mercúrio II é o sal inorgânico de mercúrio cuja toxicidade é bem conhecida. A sua ingestão oral provoca graves dores abdominais, diarreias sangrentas e supressão da urina. A ulceração, hemorragias e necrose do tracto gastrointestinal é acompanhada de um colapso circulatório. Se um paciente sobrevive à lesão intestinal, normalmente ocorre uma falha renal durante as 24 horas seguintes, devido à necrose do epitélio do túbulo proximal do rim. Se o paciente se mantiver em diálise, é possível a regeneração das células tubulares. Produzem-se também lesões ultra estruturais, incluindo diminuição da actividade mitocondrial, libertação de enzimas lisossomais e rotura das membranas celulares (Ramo *et al.*, 1993; Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001).

O mercúrio inorgânico não é removido dos cursos de água (Fraústo da Silva, 1985; Ramo *et al.*, 1993; Eisler, 2006), sendo transformado, através de um processo de alquilação, por acção de certos microrganismos, em compostos tóxicos lipossolúveis, como por exemplo o metilmercúrio, (Fraústo da Silva, 1985; Pigott & Tucker, 1990; Torreblanca *et al.*, 1993; Ruiter, 1995; Goyer, 1996; Belitz & Grosch, 1999; Goyer & Clarkson, 2001; Storelli *et al.*, 2003; Eisler, 2006; Hajeb *et al.*, 2009). Estes compostos são absorvidos directamente pelos organismos aquáticos, concentrados e passados através da cadeia alimentar aos peixes, aves e aos seres humanos (Fraústo da Silva, 1985; Ramo *et al.*, 1993; Ruiter, 1995; Goyer, 1996; Belitz & Grosch, 1999; Storelli *et al.*, 2005<sup>a</sup>; Eisler, 2006; Magalhães *et al.*, 2007).

Os compostos orgânicos de mercúrio podem apresentar-se sobre a forma de metilmercúrio, dimetilmercúrio, etilmercúrio, fenilmercúrio e metoxietilmercúrio (Ballantyne *et al.*, 1995; Hamada & Osame, 1996; Belitz & Grosch, 1999).

O metilmercúrio (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Hg é a mais importante forma de mercúrio em termos de toxicidade e efeitos adversos para saúde (Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001; Eisler, 2006).

Este é um composto lipofílico facilmente absorvido. A absorção gastrointestinal, a partir do alimento, é de cerca de 90 a 95 % enquanto a de sais de mercúrio inorgânico é de 7% (Goyer & Clarkson, 2001; Eisler, 2006; Castro-González & Méndez-Armenta, 2008). Atravessa a barreira hematoencefálica e a placentária e reage com os seus órgãos-alvo – os tecidos do cérebro (Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001; Eisler, 2006; Storelli *et al.*, 2003; Castro-González & Méndez-Armenta, 2008; Hajeb *et al.*, 2009). O metilmercúrio sofre uma biotransformação para compostos de mercúrio bivalente nos tecidos, por quebra da ligação carbono-mercúrio (Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001).

Vários estudos sugerem que a ruptura da molécula de metilmercúrio origina a formação de radicais livres, os quais afectam as membranas lipídicas das células neuronais, provocando o seu dano (Miura *et al.* 1995). A esta situação não deve ser estranho o facto dos efeitos tóxicos do metilmercúrio poderem ser reduzidos por antioxidantes como o selénio (Chang & Cockerham, 1994; Lall, 1995; Raymond & Ralston, 2004; Eisler, 2006; Gailer, 2007; Sivaperumal *et al.*, 2007) e a vitamina E (Chang & Cockerham, 1994; Parazo *et al.*, 1998; Rao & Sharma, 2001; Eisler, 2006).

Castro-González & Méndez-Armenta (2008), na sua revisão, referem que o mecanismo molecular envolvido na toxicidade do metilmercúrio comporta a inibição da síntese de proteínas, disrupção dos microtúbulos, aumento do Ca<sup>2+</sup> intracelular com o consequente distúrbio da função neurotransmissora devido à ligação do metilmercúrio aos grupos tiol (também designados de sulfidrilo).

Muitos desses efeitos, produzidos por compostos alquílicos a curto termo, são únicos em termos de toxicidade do mercúrio, mas não específicos, pois podem ser detectados noutras patologias (Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001). O metilmercúrio tem grande afinidade para os grupos sulfidrilo (Chang & Cockerham, 1994; Carvalho *et al.*, 2005; Balshaw *et al.*, 2008; Castro-González & Méndez-Armenta, 2008; Hajeb *et al.*, 2009) e, por essa razão, os complexos com os grupos –SH, em que o aminoácido

cisteína é particularmente rico, servem de ligandos e asseguram o transporte do mercúrio no sangue e no sistema nervoso central (Chang & Cockerham, 1994).

Os sinais clínicos relacionados com sintomas de intoxicação ou com o quadro de neuropatologia, foram relatados em estudos epidemiológicos feitos no Japão, onde se verificou envenenamento causado pela ingestão de peixe anormalmente contaminado com mercúrio (devido a elevadas descargas de mercúrio na água) (Fraústo da Silva, 1985; Pigott & Tucker, 1990; Alemany & Remesar, 1993; Azcue, 1993; Ramo *et al.*, 1993; Chang & Cockerham, 1994; Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001; Hamada & Osame, 1996; Belitz & Grosch, 1999; Storelli *et al.*, 2005<sup>a</sup>; Eisler, 2006; Halliwell & Gutteridge, 2007), no Iraque, em 1972, onde se verificaram várias centenas de mortes por ingestão de farinha obtida de sementes tratadas com sais de mercúrio (Fraústo da Silva, 1985; Azcue, 1993; Belitz & Grosch, 1999; Eisler, 2006) e em publicações relacionadas com a exposição ocupacional (Ramo *et al.*, 1993; Eisler, 2006).

Os casos ocorridos no Japão na Baía de Minamata e em Nigata fizeram história pelo elevado número de vítimas que provocaram (Fraústo da Silva, 1985; Azcue, 1993; Hamada & Osame, 1996; Eisler, 2006; Castro-González & Méndez-Armenta, 2008).

No caso ocorrido no Iraque a situação ficou agravada, pois, para se livrarem das sementes contaminadas, os camponeses deitaram-nas aos rios e lagos, contaminando a água e os organismos aquáticos. Essa atitude inconsciente calcula-se que provocou a morte a umas 5000 a 50000 pessoas e causou incapacidade a cerca de 100000 (Azcue, 1993).

O consumo de produtos da pesca com elevados níveis de metilmercúrio, durante longos períodos de tempo, por populações de vilas piscatórias, está também associado ao risco de toxicidade (Renzoni *et al.*, 1998; Eisler, 2006).

Os maiores efeitos provocados pela exposição ao metilmercúrio são os efeitos neurotóxicos nos adultos e o efeito tóxico nos fetos de grávidas expostas a esse composto. A principal fonte de exposição, na população em geral, é através do consumo de peixe, e o cérebro é o órgão mais afectado (Ramo *et al.*, 1993; Chang & Cockerham, 1994; Goyer, 1996; Renzoni *et al.*, 1998; Goyer & Clarkson, 2001; Storelli *et al.*, 2003; Eisler, 2006; Hajeb *et al.*, 2009). O efeito genotóxico, de que resultam aberrações cromossómicas, também foi demonstrado em populações expostas ao metilmercúrio. O efeito neurotóxico manifesta-se com um entumecimento da boca, lábios e extremidades, dificuldade em articular palavras, sensação generalizada de debilidade, fadiga, incapacidade de concentração, perda de visão, audição e finalmente coma e morte.

Observações neuropatológicas mostraram que tanto o cérebro como o cerebelo aparecem focos de necrose neuronal com processos de destruição celular (Ramo *et al.*, 1993; Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001; Eisler, 2006). Nos adultos o mercúrio orgânico provoca danos em células específicas de áreas como o córtex visual e o cerebelo. Os sintomas de envenenamento no homem são de instabilidade mental, perturbação nervosa e até paranóia (Fraústo da Silva, 1985; Storelli *et al.*, 2003).

Em organismos aquáticos a concentração tóxica de sais de mercúrio varia entre 0,1 e 200 µg/l em espécies marinhas e de água doce. De um modo geral a toxicidade é maior a temperaturas mais elevadas e salinidades mais baixas (Ramo *et al.*, 1993; Eisler, 2006).

Os sintomas de toxicidade aguda, nos peixes, incluem o aumento dos movimentos respiratórios, perda de equilíbrio, movimentos lentos. Os sinais relacionados com uma exposição crónica envolvem lesões cerebrais, cataratas, coordenação motora anormal (Ramo *et al.*, 1993; Eisler, 2006).

#### 1.3.6.2 2 Cádmio (Cd)

A poluição pelo cádmio pode resultar de operações mineiras, de indústrias metalúrgicas, da corrosão do zinco galvanizado, da indústria de produção de baterias, utilização de fertilizantes (Fraústo da Silva, 1985; Azcue, 1993; Chang & Cockerham, 1994; Goyer, 1996; Belitz & Grosch, 1999; Goyer & Clarkson, 2001; Halliwell & Gutteridge, 2007; ATSDR, 2008<sup>b</sup>).

Em alimentos de origem animal, e tal como acontece no homem, o cádmio é encontrado preferencialmente nos órgãos internos como o fígado e rim (Torreblanca *et al.*, 1993; Goyer, 1996; Belitz & Grosch, 1999; Goyer & Clarkson, 2001; Celik *et al.*, 2004; ATSDR, 2008<sup>b</sup>; Castro-González & Méndez-Armenta, 2008).

No organismo humano o cádmio compete com o zinco, cobre (Pigott & Tucker, 1990; Ramo *et al.*, 1993; Goyer, 1997; Celik *et al.*, 2004) e ferro podendo inibir a sua absorção (Pigott & Tucker, 1990; Ramo *et al.*, 1993; Goyer, 1997; Castro-González & Méndez-Armenta, 2008) e substituir o cálcio nas ligações (Goyer, 1997; Wilkins & Wilkins, 1997; ATSDR, 2008<sup>b</sup>). O cádmio também apresenta uma grande afinidade para os grupos tiol (Halliwell & Gutteridge, 2007), perturbando o metabolismo dos aminoácidos sulfurados e o funcionamento de numerosas enzimas (Ramo *et al.*, 1993).

Os problemas relacionados com o cádmio derivam, em grande parte, da possibilidade que este elemento possui em substituir o zinco nas suas próprias enzimas.

O cádmio apresenta um efeito inibitório da actividade de metaloenzimas contendo zinco, como seja a carbopeptidase e a manosidase, e substitui o zinco nas metalotioninas (Fraústo da Silva, 1985; Ramo *et al.*, 1993; Goering *et al.*, 1995; Celik *et al.*, 2004).

Assim, a toxicidade do cádmio pode ser consequência dos distúrbios provocados no metabolismo do zinco e esse facto tem sido revelado em ensaios de farmacologia experimental em que dietas enriquecidas em zinco diminuem os sinais de toxicidade do cádmio. Lesões paraqueratinócitas, testiculares, de intolerância à glucose, alterações de crescimento, alterações cardíacas provocadas pelo cádmio podem ser prevenidas ou, pelo menos minoradas, pela suplementação de zinco na dieta dos animais (Peraza *et al.*, 1998).

A razão pela qual o zinco diminui a toxicidade gerada pelo cádmio pode, em parte, ser justificada pelo facto do zinco induzir uma produção acelerada de metalotioninas que, por sua vez, complexam o ião cádmio e funcionam como um dos seus mecanismos de destoxificação (Fraústo da Silva, 1985; Ramo *et al.*, 1993; Goyer, 1996).

A toxicidade do cádmio afecta o metabolismo do cálcio e os indivíduos com nefropatia grave devido ao cádmio podem apresentar cálculos renais e excreção excessiva de cálcio. Alterações ósseas associadas relacionam-se, provavelmente, com a perda de cálcio e incluem dores ósseas, osteomalácia e osteoporose (Goering *et al.*, 1995; Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001; Celik *et al.*, 2004; ATSDR, 2008<sup>b</sup>). As alterações ósseas fazem parte de uma síndrome, a doença Itai-Itai, reconhecida em mulheres múltiparas em período pós-menopausa vivendo na área de Fuchu, no Japão, antes e durante a Segunda Guerra Mundial. A síndrome consiste em deformações graves dos ossos e em doença renal crónica (Fraústo da Silva, 1985; Azcue, 1993; Ramo *et al.*, 1993; Goering *et al.*, 1995; Goyer, 1996; Belitz & Grosch, 1999; Goyer & Clarkson, 2001; ATSDR, 2008<sup>b</sup>). Não se sabe ao certo quantas pessoas foram afectadas por esta doença mas pensa-se que morreram cerca de 100 pessoa entre 1947 e 1965 (Azcue, 1993).

No homem, a ingestão de alimentos ou bebidas contaminadas com cádmio, pode provocar sintomas agudos no tracto gastrointestinal. Os sintomas incluem náuseas, vómitos, salivação, dores abdominais e de cabeça (Ramo *et al.*, 1993; Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001).

Os sintomas que produzem a inalação do cádmio, entre outros, são dores de cabeça, insuficiência respiratória, podendo, em exposições crónicas, provocar enfisema

pulmonar, lesões renais, efeitos sobre o sistema cardiovascular e esquelético (Ramo *et al.*, 1993; Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001; ATSDR, 2008<sup>b</sup>).

O período de latência da intoxicação crónica é muito variável, em geral de 5 a 10 anos. Durante a primeira fase, existe uma descoloração dos dentes, perde-se o sentido do gosto e a boca fica ressequida. Posteriormente, o número de glóbulos vermelhos diminui devido às lesões que se produzem na medula óssea. São sentidas dores lombares muito fortes que podem imobilizar o paciente por longos períodos de tempo. Em animais verificaram-se efeitos teratogénicos, carcinogénicos, retardamento do crescimento e anemia entre outros (Ramo *et al.*, 1993). No Homem, existem evidências que sugerem que o cádmio é cancerígeno. Outros efeitos observados, quer em humanos ou animais, incluem efeitos hepáticos, imunológicos, hematológicos e alterações reprodutivas (ATSDR, 2008<sup>b</sup>).

A quantidade de cádmio ingerido por dia é de cerca de 10 a 40 µg (Torreblanca *et al.*, 1993; Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001). O aumento da absorção gastrointestinal de cádmio está relacionado com dietas deficientes em cálcio e ferro e dietas pobres em proteínas (Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001). É pouco absorvido na maioria das dietas, sendo no Homem cerca de 3 a 8 %. Por outro lado, acredita-se que o cádmio absorvido é complexado com metalotioninas (Pigott & Tucker, 1990; Ramo *et al.*, 1993; Torreblanca *et al.*, 1993; Goyer, 1996; Wilkins & Wilkins, 1997; Goyer & Clarkson, 2001). Por esta razão, pode detectar-se uma concentração apreciável de cádmio, na forma de complexos Cd-metalotionina, sem se verificarem danos (Chang & Cockerham, 1994). Contudo, quando os níveis de cádmio excedem a concentração crítica tornam-se tóxicos (Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001; Celik *et al.*, 2004). A persistência de cádmio no organismo é de cerca de 30 anos (Torreblanca *et al.*, 1993; Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001).

No que respeita aos efeitos tóxicos do cádmio em organismos aquáticos, existem dados suficientes para se poder afirmar que, concentrações de cádmio superiores a 10 µg/l na água estão associadas a efeitos adversos sobre os animais tais como a elevadas taxas de mortalidade, redução do crescimento e inibição da reprodução. Em ambientes marinhos, uma baixa salinidade e um aumento de temperatura ambiente favorecem o aumento da toxicidade em invertebrados. Este facto não está, no entanto, perfeitamente demonstrado para os peixes. De qualquer maneira, e de uma forma geral, a resistência

ao cádmio é superior em organismos marinhos comparativamente aos de água doce (Ramo *et al.*, 1993).

#### 1.3.6.2.3 Chumbo (Pb)

O chumbo é o metal tóxico mais ubiqüitário, que está presente não só no meio ambiente inerte como também em sistemas biológicos (Ramo *et al.*, 1993; Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001; Castro-González & Méndez-Armenta, 2008).

O conhecimento dos efeitos adversos provocados pela exposição ao chumbo, ao contrário do mercúrio e do cádmio, é muito antigo. Existem relatos sobre casos de intoxicações com chumbo desde há mais de 2000 anos (Azcue, 1993; Goyer, 1996).

O chumbo pode ter origem natural (vulcões, erosões, entre outras), no entanto, esta é mínima quando comparada com as de origem antropogénica (ATSDR, 2008<sup>a</sup>). A contaminação do ambiente por chumbo é devida à industrialização e à utilização de gasolina (contendo chumbo) como combustível. Existem no entanto outras fontes de contaminação, tais como a utilização de chumbo nos utensílios de cozinha, nos canos (Chang & Cockerham, 1994; Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001; ATSDR, 2008<sup>a</sup>), em tintas, em objectos de cerâmica vidrada por chumbo, emissões industriais, entre outros (Azcue, 1993; Belitz & Grosch, 1999; Belitz *et al.*, 2004; ATSDR, 2008<sup>a</sup>; Castro-González & Méndez-Armenta, 2008). A substituição da gasolina com chumbo por outra sem chumbo resultou num decréscimo dos níveis de contaminação (Belitz & Grosch, 1999; Belitz *et al.*, 2004).

O chumbo na atmosfera existe tanto em formas sólidas, pó ou partículas de dióxido de chumbo, ou na forma de vapores. Apenas uma fracção muito pequena das partículas (< 0,5 µm) são retidas nos pulmões (Goyer & Clarkson, 2001).

A semelhança química do chumbo bivalente com os metais alcalino-terrosos, especialmente o cálcio, é determinante para a sua acumulação (Torreblanca *et al.*, 1993; Peraza *et al.*, 1998; Goyer & Clarkson, 2001) nos vertebrados.

No entanto, a contaminação de chumbo no ambiente não aumenta significativamente o teor de chumbo nos alimentos devido à insolubilidade em água da grande maioria dos sais de chumbo. Por esta razão, os animais que se alimentam desses vegetais contaminados, absorvem uma pequena quantidade de chumbo, sendo a maioria excretado pelas fezes (Belitz & Grosch, 1999).

Os fenómenos toxicológicos estão dependentes da especiação dos compostos de chumbo (Ramo *et al.*, 1993; Celik *et al.*, 2004). Tal como no mercúrio, o chumbo pode

ligar-se covalentemente a ligantes orgânicos como os grupos alquila formando componentes organometálicos estáveis. Estas formas podem facilmente atravessar a membrana celular por difusão, acumulando-se particularmente em tecidos ricos em estruturas lipídicas (ex. tecidos do sistema nervoso) (Dallinger, 1995<sup>a</sup>; Halliwell & Gutteridge, 2007). No Homem, as formas orgânicas de chumbo (tetrametilchumbo e tetraetilchumbo) atravessam a barreira hematoencefálica e afectam o sistema nervoso central (Wilkins & Wilkins, 1997; Goyer & Clarkson, 2001).

Na intoxicação aguda, o sintoma mais usual são cólicas gastrointestinais. Outros sintomas que se podem apresentar são diarreia, sabor metálico na boca e náuseas. A intoxicação aguda é menos frequente do que a crónica e pode resultar da inalação de óxido de chumbo (Ramo *et al.*, 1993).

A intoxicação crónica é geralmente provocada pela absorção de óxidos, carbonatos e outros compostos solúveis em água e no tracto digestivo (Ramo *et al.*, 1993). A intoxicação por chumbo orgânico deve-se geralmente à inalação de tetraetilchumbo, o qual é muito volátil e lipossolúvel (Ramo *et al.*, 1993; Goyer & Clarkson, 2001).

Relacionados com uma exposição crónica e subcrónica a chumbo, especialmente em pessoas sujeitas a uma exposição ocupacional, os efeitos mais comuns são os verificados sobre os sistemas hematopoiético e sistema nervoso central (Ramo *et al.*, 1993; Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001; Celik *et al.*, 2004). Neste último manifestam-se na forma de encefalopatias. Em casos extremos, a intoxicação por chumbo pode levar ao coma e morte (Ramo *et al.*, 1993; Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001; Castro-Gonzálvez & Méndez-Armenta, 2008).

Além destes sintomas, a intoxicação por chumbo está igualmente associada a diversas alterações renais (Ramo *et al.*, 1993; Goyer, 1996; Celik *et al.*, 2004) e aumento de pressão sanguínea (Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001; Celik *et al.*, 2004). Em 1954, um estudo revelou que de 165 indivíduos que sucumbiram, por intoxicação com chumbo na infância, em 94 foram detectadas nefrites crónicas (Azcue, 1993).

O chumbo é classificado como carcinogénico (Ramo *et al.*, 1993; Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001; Celik *et al.*, 2004). Vários estudos epidemiológicos em populações expostas ao chumbo relacionam a incidência de cancro com a exposição ocupacional ao chumbo (Goyer & Clarkson, 2001).



As crianças, sobretudo as de tenra idade, são a camada populacional mais afectada. Também os fetos podem sofrer lesões graves por exposição materna ao chumbo (Ramo *et al.*, 1993; Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001).

Uma exposição intensa ao chumbo pode causar esterilidade, abortos e aumento da mortalidade neonatal. Em ensaios de farmacologia experimental, utilizando animais, foram demonstrados efeitos genotóxicos tanto em machos como em fêmeas. Além disso, foram descritas aberrações cromossómicas e morfológicas anormais em espermatozóides humanos (Ramo *et al.*, 1993; Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001).

Uma das principais vias de exposição ao chumbo é a alimentar (Torreblanca *et al.*, 1993; Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001; Dalman *et al.*, 2006; Castro-Gonzálvez & Méndez-Armenta, 2008; ATSDR, 2008<sup>a</sup>). O consumo de chumbo diário é estimado entre 20 e 100 µg. O chumbo pode ter um tempo de semi-vida médio de cerca de 20 anos no esqueleto (Torreblanca *et al.*, 1993; Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001). Os adultos absorvem cerca de 5 a 15 % do chumbo ingerido e normalmente retêm menos de 5 % do que é absorvido. As crianças absorvem cerca de 41,5 % e retêm 31,8 % do chumbo consumido numa dieta alimentar regular (Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001).

Em ambientes marinhos as zonas costeiras mais perto de zonas urbanizadas são as mais afectadas, ou seja, onde se observam maiores concentrações de chumbo. É sabido que a persistência deste elemento na água e solo é grande, no entanto, a sua quantidade na água depende de factores como a temperatura, pH, pressão e teor de sais dissolvidos. A quantidade de Pb em águas marinhas está estimada em 0,005 µg/l. (ATSDR, 2008<sup>a</sup>).

De um modo geral, as concentrações de Pb são usualmente mais baixas em predadores de nível trófico mais elevado, como por exemplo os peixes carnívoros, do que nos encontrados em organismos bentónicos e algas. Assim, em peixes, o factor de bioconcentração do Pb não é muito elevado (BCF=42) quando comparado por exemplo com os moluscos (BCF=2570) (ATSDR, 2008<sup>a</sup>).

#### **1.3.6.2.4 Arsénio (As)**

O arsénio é um elemento ubiqüitário no ambiente (Kotsonis *et al.*, 2001; ATSDR, 2007; Halliwell & Gutteridge, 2007; Castro-Gonzálves & Méndez-Armenta, 2008; Peshut *et al.*, 2008) e pode provir de fontes antropogénica ou naturais (Peshut *et al.*, 2008).

Este elemento é classificado quimicamente como metalóide, no entanto, é frequentemente referido como metal (ATSDR, 2007). Apresenta-se sob a forma inorgânica ou orgânica que pode ser trivalente ou pentavalente (Goyer, 1996; Goyer & Clarkson, 2001; ATSDR, 2007; Halliwell & Gutteridge, 2007; Castro-Gonzálves & Méndez-Armenta, 2008). Os compostos trivalentes são a principal forma tóxica enquanto os pentavalentes possuem um efeito diminuto na actividade enzimática (Peraza *et al.*, 1998; Goyer & Clarkson, 2001; McDonald *et al.*, 2002;).

Embora a essencialidade do arsénio tenha sido demonstrada num ambiente isento deste elemento a sua função fisiológica ainda não foi demonstrada (Lall, 1995; IOM, 2001). A essencialidade do arsénio foi testada em galinhas, ratos e cabras (McDonald *et al.*, 2002; Belitz *et al.*, 2004). Para além de alterações no crescimento, um estudo efectuado em cabras demonstrou que uma dieta deficiente em arsénio interfere na reprodução (provoca abortos e baixo peso à nascença), produção de leite materno e pode provocar morte repentina dos animais (McDonald *et al.*, 2002).

Apesar do papel metabólico do arsénio ainda não ser compreendido (Belitz *et al.*, 2004), este elemento parece estar envolvido no metabolismo da metionina (McDonald *et al.*, 2002; Belitz *et al.*, 2004) e a colina pode ser substituída por arsenocolina em algumas das suas funções (Belitz *et al.*, 2004). Por outro lado, o arsénio antagoniza o metabolismo do iodo e inibe vários processos metabólicos, afectando desta forma numerosos sistemas nos órgãos (Kotsonis *et al.*, 2001).

A toxicidade do arsénio depende do seu estado de oxidação, forma química (Lavilla *et al.*, 2008; Peshut *et al.*, 2008), exposição e dose, solubilidade no meio biológico e taxa de excreção. A exposição ao arsénio inorgânico é considerada a mais perigosa (ATSDR, 2007; Halliwell & Gutteridge, 2007; Castro-Gonzálves & Méndez-Armenta, 2008; Lavilla *et al.*, 2008).

Consumos elevados de arsénio inorgânico, principalmente devido à exposição crónica a elevados níveis na água de consumo, estão associados a vários efeitos tóxicos incluindo o risco do aumento de diversos tipos de cancro (IOM, 2001; Goyer, 2001; Kotsonis *et al.*, 2001; Belitz *et al.*, 2004; ATSDR, 2007; Halliwell & Gutteridge, 2007; Shah *et al.*, 2009). No entanto, não existem evidências que relacionem o arsénio orgânico existente nos alimentos e a ocorrência de efeitos adversos, incluindo o cancro (IOM, 2001).

As intoxicações agudas em produtos alimentares resultam da adição deste composto aos alimentos. O tempo entre a exposição e os sintomas é de 10 minutos até

cerca de vários dias e inclui vômitos, diarreia, ardor na boca ou garganta, gosto metálico, espasmos musculares, vertigens e delírio (Kotsonis *et al.*, 2001).

Este elemento é encontrado na maioria dos alimentos, solos, água e nos tecidos animais e humanos (Pigott & Tucker, 1990). Nos animais está distribuído pelos tecidos e fluidos corporais, mas concentrado particularmente no cabelo, unhas e pele (McDonald *et al.*, 2002).

A maior fonte de arsénio na alimentação humana é o pescado (IOM, 2001; Kotsonis *et al.*, 2001; Belitz *et al.*, 2004; ATSDR, 2007; Rodriguez *et al.*, 2009), no entanto, este metaloide encontra-se principalmente sob a forma orgânica (Pigott & Tucker, 1990; IOM, 2001; Rodriguez *et al.*, 2009). Os compostos de arsénio são convertidos pelos organismos marinhos em arsenobetaina que é uma forma praticamente inofensiva para o ser humano (Rutier, 1995; Peraza *et al.*, 1998; Storelli & Marcotrigiano, 2000<sup>b</sup>; IOM, 2001; ATSDR, 2007; Lavilla *et al.*, 2008; Rodriguez *et al.*, 2009) pois é metilada no organismo e rapidamente excretada pela urina (Storelli & Marcotrigiano, 2000; ATSDR, 2007; Castro-Gonzálves & Méndez-Armenta, 2008).

Assim, mais de 90 % do arsénio no peixe encontra-se sob a forma orgânica sendo o restante inorgânico (<10 %) (ATSDR, 2007). Diversos estudos (Storelli & Marcotrigiano, 2000; Li *et al.*, 2003) referem que o teor de arsenobetaina no peixe é maior que 97 %. Em diferentes produtos da pesca, incluindo peixes marinhos, Peshut *et al.* (2008) verificaram que a maioria das espécies possuía teores de arsénio orgânico superiores a 99,5 %, tendo apenas uma pequena percentagem apresentado valores entre 95 e 99 % (maioritariamente moluscos).

Nos organismos aquáticos a bioconcentração de arsénio ocorre primariamente nas algas e pequenos invertebrados (Storelli & Marcotrigiano, 2000<sup>b</sup>; ATSDR, 2007). As algas, que estão na base da cadeia alimentar, são o maior bioconcentrador de arsénio existente na água, podendo, desta forma, influenciar a concentração deste metaloide nos peixes. Por outro lado, no peixe, não parece existir relação entre o teor de arsénio na água e o teor deste elemento nos seus tecidos, podendo a sua acumulação ser não linear no que respeita à concentração de exposição (ATSDR, 2007).

Shah *et al.* (2009) referem que o peixe assimila o arsénio (e também diversos metais) pela ingestão de material particulado em suspensão na água, através do alimento, troca de iões dissolvidos nas membranas lipofílicas, das guelras e adsorção aos tecidos e membranas.

Os organismos que se alimentam nos fundos aquáticos podem acumular contaminantes que se encontram na água, estando estes realmente expostos a grandes quantidades de contaminantes, incluindo o arsénio, que se acumula nos sedimentos (ATSDR, 2007).

No entanto, segundo diversos autores (ATSDR, 2007; Psehut *et al.*, 2008), o arsénio não parece biomagnificar-se ou bioacumular-se nos organismos e, de um modo geral, não existem diferenças no teor deste metaloide quando comparadas diferentes espécies de peixe (herbívoras, carnívoras e insectívoras) quer se alimentem do fundo ou que sejam predadores (ATSDR, 2007).

## 1.4 Objectivos do trabalho

Considerando que:

- o peixe-espada-preto (*Aphanopus carbo*), peixe-espada-branco (*Lepidopus caudatus*), tamboril (*Lophius piscatorius*), tamboril-sovaco-preto (*Lophius budegassa*), areeiro (*Lepidorhombus whiffiagonis*), areeiro-de-quatro-manchas (*Lepidorhombus boscii*), pescada-europeia (*Merluccius merluccius*) e raias (*Raja spp*) são espécies muito apreciadas e com interesse sócio-económico, não só em Portugal Continental como nos Arquipélagos da Madeira e Açores;
- estas espécies apresentam uma grande longevidade, são carnívoras e habitam zonas que as podem predispor à exposição a factores poluentes;
- a magnitude do factor de acumulação de substâncias nocivas no pescado depende de factores endógenos do próprio peixe (estado fisiológico, longevidade e capacidade de adaptação) e das características do biótopo (características da água, organismos da água, poluição da água e fauna superior).

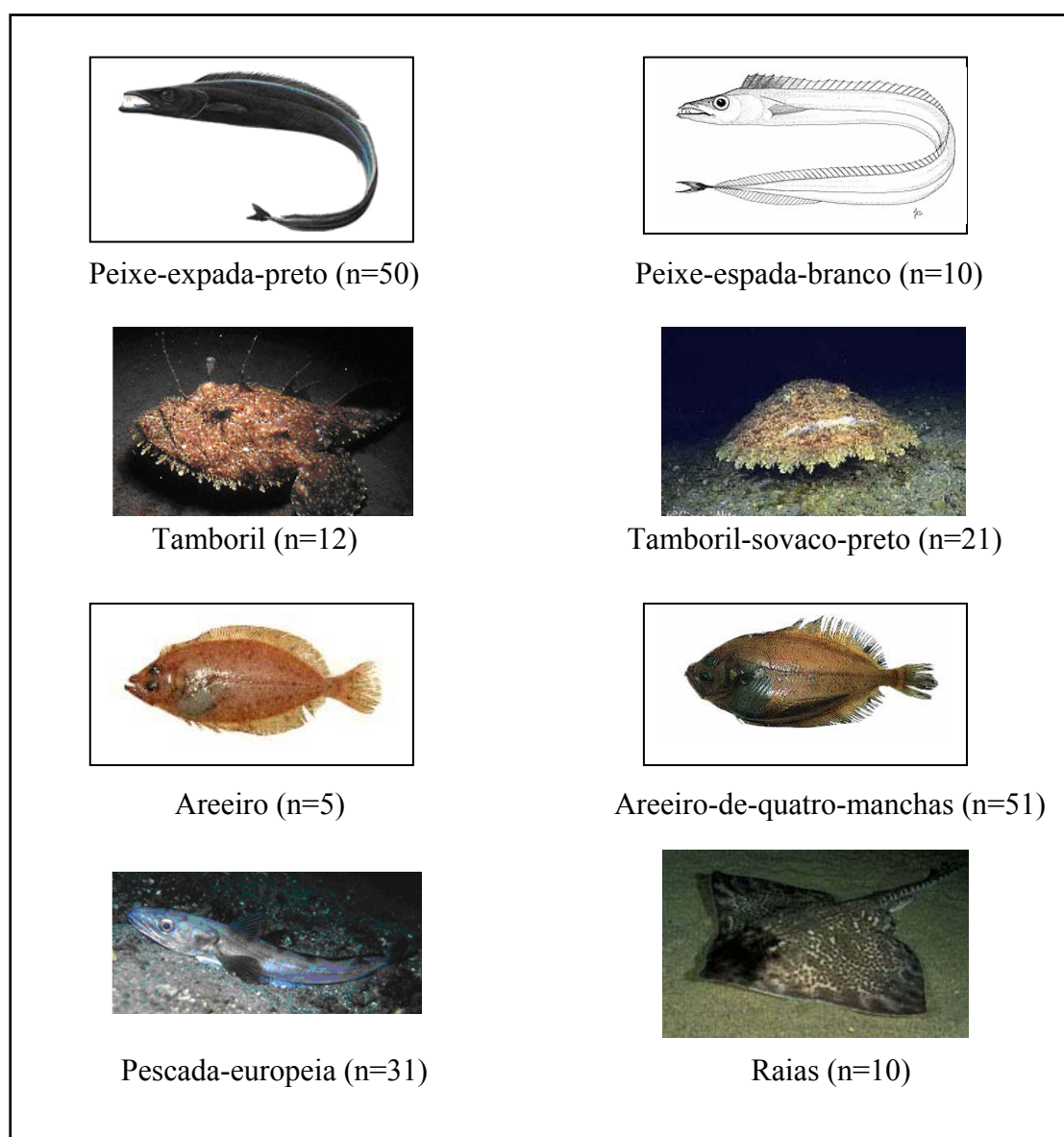
São objectivos deste trabalho:

- (i) estudar estas espécies sob o ponto de vista biológico, nutricional e toxicológico;
- (ii) elaborar informação nutricional que possa ser de interesse para o consumidor;
- (iii) simular a sua exposição não só aos aspectos benéficos como também aos perigos que podem advir do consumo destas espécies.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material biológico

O material biológico utilizado no presente trabalho foi constituído por exemplares de peixe-espada-preto (*Aphanopus carbo*), peixe-espada-branco (*Lepidopus caudatus*), tamboril (*Lophius piscatorius*), tamboril-sovaco-preto (*Lophius budegassa*), areeiro (*Lepidorhombus whiffiagonis*), areeiro-de-quatro-manchas (*Lepidorhombus boscii*), pescada europeia (*Merluccius merluccius*) e raias (*Raja* spp: *Raja clavata*; *Raja brachyura* e *Raja microocellata*) (Figura 7). De notar que os aspectos biológicos estão descritos no Anexo I.



**Figura 7** – Material biológico estudado.

A amostragem, realizada entre os anos de 2004 e 2008, foi constituída por 190 exemplares. As espécies de tamboril, tamboril-sovaco-preto e de pescada-europeia foram obtidas, a partir de capturas efectuadas na costa portuguesa, em campanhas de investigação científica a bordo do navio “NI Noruega” realizados pelo INRB-I.P./IPIMAR. Após a captura as amostras foram congeladas a bordo do navio e mantidas a -18 °C até à preparação para análise. O peixe-espada-preto e o peixe-espada-branco foram capturados na zona de Sesimbra, o areeiro e o areeiro-de-quatro-manchas em Peniche e as raia junto a Setúbal. Estas espécies foram adquiridas em fresco na lota e transportadas para o laboratório acondicionadas em gelo.

No laboratório, os exemplares frescos ou descongelados, foram identificados no que respeita à espécie e registou-se o comprimento total (cm), peso total (g) e sexo. Removeu-se em seguida os tecidos para análise: músculo de todos os exemplares amostrados e fígado do peixe-espada-preto, tamboril, tamboril-sovaco-preto e das raia uma vez que podem ser consumidos pela população portuguesa.

Para a caracterização química, seleccionou-se um conjunto variado de peixes representativo do tamanho e sexo, respectivamente.

Os tecidos a analisar foram colocados em sacos de plástico devidamente identificados (espécie, número e tecido respectivo) e armazenados a -20 °C até posterior análise.

O material de laboratório utilizado nas análises encontrava-se lavado e/ou descontaminado (HNO<sub>3</sub> a 20 %, v/v), tendo em conta a análise a realizar e de modo a evitar qualquer tipo de contaminação. O moinho granulador utilizado na homogeneização das amostras possuía uma lâmina de titânio.

## **2.2 Métodos**

### **2.2.1 Composição química aproximada**

#### **2.2.1.1 Humidade**

O teor de humidade foi determinado com base no método descrito na NP 2282 (IPQ, 1991) e no procedimento técnico em uso na Unidade U-VPPA do INRB, I.P./L-IPIMAR.

#### **2.2.1.1.1 Resumo do processo**

Dispersão da amostra, secagem à temperatura de  $105 \pm 2$  °C e arrefecimento até peso constante.

#### **2.2.1.1.2 Equipamento e utensílios**

- Material de uso corrente no laboratório
- Balança com precisão de 0,0001 g (Mettler Toledo, AG 204)
- Moinho granulador de laboratório (Retsch, GM 200)
- Cristalizadores de vidro com cerca de 90 mm de diâmetro e 15 mm de altura
- Estufa de secagem, regulável a  $105 \pm 2$  °C (Memmert, ULE 500)
- Exsicador

#### **2.2.1.1.3 Preparação da amostra**

As amostras para análise (músculo) foram descongeladas à temperatura ambiente e homogeneizadas.

#### **2.2.1.1.4 Técnica**

Pesámos cerca de 10 g da amostra de músculo homogeneizado com rigor de  $\pm 0.001$  g, para cristalizador de vidro previamente tarado. Secámos em estufa a  $105 \pm 2$  °C durante uma noite. No dia seguinte retirámos da estufa o cristalizador para um exsicador, deixámos arrefecer, pelo menos 30 minutos, e pesámos. Esta última operação foi repetida até peso constante.

#### **2.2.1.1.5 Resultados**

A humidade do produto, expressa em grama por 100 g de amostra, é dada pela fórmula:

$$100 - \left[ \frac{m_3 - m_1}{m_2} \right] \times 100$$

Sendo:

$m_1$  - a massa, em grama, do cristalizador;

$m_2$  - a massa, em grama, da toma para análise;

$m_3$  - a massa, em grama, do conjunto do cristalizador e toma para análise, após a secagem.

O resultado foi calculado com base na determinação de, pelo menos, dois ensaios sobre a mesma amostra.



#### **2.2.1.2 Proteína bruta**

O método de determinação do teor de proteína bruta foi baseado no descrito na AOAC (1998) e no procedimento técnico em uso na Unidade U-VPPA do INRB, I.P./L-IPIMAR.

##### **2.2.1.2.1 Resumo do processo**

A amostra foi digerida com ácido sulfúrico na presença de um catalisador. Seguiu-se a alcalinização do extracto com excesso de hidróxido de sódio a frio, destilação por arrastamento de vapor para libertação do amoníaco e sua recepção numa solução de ácido bórico, seguida de titulação com uma solução de ácido clorídrico. O teor de azoto total foi calculado em função da quantidade de amónia produzida. O teor de proteína bruta é calculado multiplicando o resultado obtido por um factor convencional de conversão de 6,25.

##### **2.2.1.2.2 Reagentes e soluções**

Foi utilizada água ultra pura (sistema Milli-Q Plus Millipore).

- Pastilhas Kjeltab S/3,5 (Catalisador)
- Ácido sulfúrico concentrado 95-97 % (m/m) (Fluka)
- Solução de ácido clorídrico 0,1 N (Merck)
- Hidróxido de sódio 99 % (m/m) (Merck)
- Solução de hidróxido de sódio 40 % (m/v)
- Vermelho de metilo (Merck)
- Verde bromocresol (Merck)
- Ácido bórico 99,8 % (m/m) (Merck)
- Solução de ácido bórico a 1 % (m/v) com indicador incorporado

##### **2.2.1.2.3 Aparelhos e utensílios**

- Material de uso corrente no laboratório
- Balança com precisão de 0,0001 g (Mettler Toledo, AG 204)
- Moinho granulador de laboratório (Retsch GM 200)
- Tubos de Kjeldahl para a digestão
- Aparelho de digestão (Tecator, Digestion System 20 – 1015 Digester,).
- Aparelho de destilação (Tecator, Kjeltex Auto – 1035 Analyzer).

##### **2.2.1.2.4 Preparação da amostra**

As amostras para análise (músculo) foram descongeladas à temperatura ambiente e homogeneizadas.

### 2.2.1.2.5 Técnica

#### 2.2.1.2.5.1 Determinação

Pesámos para papel de filtro 0,5 a 1 g de amostra homogeneizada e colocámos num tubo de Kjeldahl. Adicionámos uma pastilha de catalisador e 20 ml de ácido sulfúrico concentrado. Colocámos no aparelho de digestão e deixámos digerir cerca de 1 hora (310 °C durante 10 minutos e posteriormente a 450 °C durante 50 minutos). Deixámos arrefecer os tubos e procedemos à destilação da amónia, de acordo com as instruções do aparelho de destilação.

#### 2.2.1.2.5.2 Ensaio em branco

Efectuámos um ensaio em branco, seguindo a técnica descrita em 2.2.1.2.5.1, empregando as mesmas quantidades de todos os reagentes usados, à excepção do produto submetido à análise.

#### 2.2.1.2.6 Resultados

O resultado em g por 100 g de produto é dado pelo equipamento.

##### 2.2.1.2.6.1 Cálculo do teor de azoto total

Calculou-se o teor de azoto total, expresso em grama por 100 g de amostra, usando a seguinte equação:

$$N_T = \left[ \frac{14 \times (V_a - V_b) \times N}{(m/1000)} \right] \times 100$$

Sendo:

$V_a$  - o volume, em mililitros, da solução de ácido clorídrico de título conhecido, gasto na titulação da amostra;

$V_b$  - o volume, em mililitros, da solução de ácido clorídrico de título conhecido gasto na titulação do branco;

$N$  - concentração, expressa em normalidade, da solução de ácido clorídrico;

$M$  - massa, em grama, da toma para análise.

Nota: no caso das raías foi descontado o teor de azoto não proteico)

##### 2.2.1.2.6.2 Cálculo do teor de proteína bruta

Calculou-se o teor de proteína bruta, expresso em grama por 100 g de amostra, usando a seguinte equação:

$$P_B = N_T \times F$$

Sendo:

$P_B$  - o teor de proteína bruta;

$N_T$  - teor de azoto total da amostra;

F - factor de conversão do azoto Kjeldahl em proteína (F=6,25).

O resultado foi calculado com base na determinação de, pelo menos, dois ensaios sobre a mesma amostra.

### **2.2.1.3 Cinza total**

O teor de cinza total foi determinado baseado no método descrito na NP 2032 (IPQ, 1988) e no procedimento técnico em uso na Unidade U-VPPA do INRB, I.P./L-IPIMAR.

#### **2.2.1.3.1 Resumo do processo**

Secagem da amostra seguida de carbonização e incineração a uma temperatura de  $500 \pm 25$  °C e determinação da massa do resíduo.

#### **2.2.1.3.2 Equipamentos e utensílios**

- Material de uso corrente no laboratório
- Balança com precisão de 0,0001 g (Mettler Toledo, AG 204)
- Moinho granulador de laboratório (Retsch, GM 200)
- Cadinho de porcelana
- Estufa de secagem (Cassel)
- Placa de aquecimento (Schott-Geräte, CK 111)
- Mufla, regulável a  $500 \pm 25$  °C (Heraeus, tipo MR 170 E)
- Exsicador

#### **2.2.1.3.3 Preparação da amostra**

As amostras para análise (músculo) foram descongeladas à temperatura ambiente e homogeneizadas.

#### **2.2.1.3.4 Técnica**

Pesámos cerca de 5 g da amostra homogeneizada, com o rigor de  $\pm 0,001$  g, para cadinho previamente tarado. Colocámos o cadinho, para secagem da amostra, na estufa a, pelo menos, 100 °C durante uma noite. Em seguida, transferimos o cadinho para a mufla, elevando a temperatura muito lentamente, até à temperatura de  $500 \pm 25$  °C. Deixámos durante 16 horas (uma noite) para incineração. Retirámos o cadinho da mufla, arrefecemos em exsicador e pesámos. Repetimos as operações de incineração, arrefecimento e pesagem até que duas pesagens sucessivas não difiram entre si em mais de 1 mg.

### 2.2.1.3.5 Resultados

Calculou-se o teor de cinza total, expresso em grama por 100 g de amostra, usando a seguinte equação:

$$\frac{(m_3 - m_1)}{(m_2 - m_1)} \times 100$$

sendo:

$m_1$  - a massa, expressa em grama, do cadinho vazio;

$m_2$  - a massa, expressa em grama, do cadinho com a toma;

$m_3$  - a massa, expressa em grama, do cadinho com o resíduo.

O resultado é calculado com base na determinação de, pelo menos, dois ensaios sobre a mesma amostra.

### 2.2.1.4 Gordura livre

O teor de gordura livre foi determinado baseado no método descrito na NP 1972 (IPQ, 1992) e no procedimento técnico em uso na Unidade U-VPPA do INRB, I.P./L-IPIMAR.

#### 2.2.1.4.1 Resumo do processo

Extracção da matéria gorda da amostra seca, com éter etílico. Eliminação do solvente por evaporação, secagem e pesagem.

#### 2.2.1.4.2 Reagentes

- Sulfato de sódio anidro 99,8 % (m/m) (Panreac)
- Éter etílico puro (José M. Vaz Pereira) (solvente de extracção)

#### 2.2.1.4.3 Equipamentos e utensílios

- Material de uso corrente no laboratório
- Balança com precisão de 0,0001 g (Mettler Toledo, AG 204)
- Moinho granulador de laboratório (Retsch, GM 200)
- Cartucho de extracção em papel de filtro isento de gordura
- Papel de filtro, isentos de gordura
- Aparelho de extracção constituído por bateria de aquecimento (SBS, PC 6L), balões de fundo plano (250 ml) e extractores de Soxhlet
- Estufa regulável ( $103 \pm 2$  °C) (Memmert, ULE 500)
- Exsicador
- Placa de aquecimento (Schott-Geräte, CK 111)

#### 2.2.1.4.4 Preparação da amostra

As amostras para análise (músculo) foram descongeladas à temperatura ambiente e homogeneizadas.

#### 2.2.1.4.5 Técnica

Pesámos 10 g de amostra homogeneizada. Adicionámos uma quantidade igual de sulfato de sódio anidro à toma para análise e transferimos quantitativamente para o cartucho de extracção, arrastando todos os vestígios da toma com papel de filtro, que se introduziu igualmente no cartucho. Tapámo-lo com papel de filtro, isento de gordura. Num balão, previamente seco em estufa, durante 30 minutos, arrefecido em exsiccador e tarado, colocámos um volume de cerca de 80 ml de solvente e no extractor quantidade suficiente para cobrir o cartucho. Colocámos o balão com o extractor na bateria de aquecimento durante 7 horas. Após a extracção, retirámos o balão e eliminámos o solvente utilizando placa de aquecimento a cerca de 35 °C. Secámos o balão contendo o extracto em estufa, durante 30 minutos, e, após arrefecimento em exsiccador, pesámos.

Repetimos as operações de aquecimento, arrefecimento e pesagem até que duas pesagens sucessivas não diferissem entre si em mais de 0,1 % da massa da toma do ensaio.

#### 2.2.1.4.6 Resultados

Calculou-se o teor de matéria gorda livre, expresso em grama por 100 g de amostra, usando a seguinte equação:

$$(m_3 - m_2) \times \frac{100}{m_1}$$

sendo:

$m_1$  - a massa, expressa em grama, da toma para ensaio;

$m_2$  - a massa, expressa em grama, do balão de extracção;

$m_3$  - a massa, expressa em grama, do balão de extracção com o extracto após secagem.

O resultado é calculado com base na determinação de, pelo menos, dois ensaios sobre a mesma amostra.

#### 2.2.2 Perfil de ácidos gordos

O perfil de ácidos gordos foi determinado baseado no método descrito por Lepage & Roy (1986) modificado por Cohen *et al.* (1988) e no procedimento técnico em uso na Unidade U-VPPA do INRB, I.P./L-IPIMAR.

### 2.2.2.1 Resumo do processo

Os lípidos, após liofilização do tecido muscular, são derivatizados por hidrólise ácida e esterificados a fim de determinar por cromatografia em fase gasosa com coluna capilar o perfil de ácidos gordos.

### 2.2.2.2 Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados possuíam grau analítico para cromatografia e foi utilizada água ultra pura (sistema Milli-Q Plus Millipore).

- n-heptano > 99,3 % (m/m) (Merck)
- Cloreto de acetilo para síntese > 98 % (m/m) (Merck)
- Metanol 99,8 % (m/m) (Merck)
- Solução metanólica de cloreto de acetilo a 5 % (m/v)
- Sulfato de sódio anidro 99,9 % (m/m) (Panreac)
- Padrões de ácidos gordos PUFA-1 e PUFA-3 (Supelco)

### 2.2.2.3 Equipamentos e utensílios

- Material de uso corrente no laboratório
- Tubos de vidro com rosca
- Balança com precisão de 0,0001 g (Mettler Toledo, AG 204)
- Moinho granulador de laboratório (Retsch, GM 200)
- Liofilizador (Edwards, Modulyo Freeze-Dryer)
- Máquina de embalar sob vácuo (Multivac)
- Caixas de Petri
- Frascos para injeção
- Vortex (Heidolph, ReAX)
- Centrífuga (Sigma, 2K 15)
- Banho termostatizado (Kötterman, 3047)
- Evaporador de amostras (Reacti, Therm III)
- Cromatógrafo de fase gasosa (Varian, CP-3800) (Figura 8) equipado com um amostrador automático e um detector de ionização de chama. Na separação usou-se hélio como gás de arraste e uma coluna capilar de sílica da Supelco (USA) Omegawax (0,25 mm d.i. × 30 m × 0,25 µm)



**Figura 8** – Cromatógrafo de fase gasosa (Varian, CP-3800).

#### **2.2.2.4 Preparação da amostra**

As amostras para análise (músculo) foram descongeladas à temperatura ambiente e homogeneizadas.

Congelámos uma fracção da amostra homogeneizada, distribuída uniformemente numa caixa de Petri, e colocámo-la no liofilizador durante 48 horas (a uma temperatura de  $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$  e a uma pressão de aproximadamente  $10^{-1}$  atmosferas). As amostras liofilizadas e novamente homogeneizadas foram colocadas em sacos de plástico devidamente identificadas (espécie, número), embaladas sob vácuo e armazenadas a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  até posterior análise.

#### **2.2.2.5 Técnica**

##### **2.2.2.5.1 Extracção**

Pesámos cerca de 300 mg de material liofilizado previamente triturado para tubos com rosca, juntámos 5 ml da mistura da solução metanólica de cloreto de acetilo a 5 %. Agitámos os tubos e colocámo-los em banho-maria a  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante uma hora. Deixámos arrefecer à temperatura ambiente, juntámos 1 ml de água e 2 ml de n-heptano. Após agitação, durante 1 minuto em vortex, centrifugámos a 2000 rpm durante 5 minutos.

Recolhemos a fase orgânica onde se encontram os ésteres, filtrando através de coluna preparada com algodão e sulfato de sódio anidro. Quando necessário concentrámos a amostra, evaporando o solvente com o auxílio de um evaporador de amostras (em corrente de azoto). Adicionámos 100 ou 200  $\mu\text{l}$  de n-heptano e transferimos para frascos para injeção com “insert”.

##### **2.2.2.5.2 Análise cromatográfica**

Os ésteres metílicos dos ácidos gordos foram analisados num cromatógrafo em fase gasosa e o volume da amostra injectado foi de 2  $\mu\text{l}$ . Durante o tempo de análise

(aproximadamente 40 minutos) a coluna foi aquecida a 180 °C durante 5 minutos. Seguidamente a temperatura foi aumentada 4 °C/minuto durante 25 minutos, até atingir os 220 °C. A temperatura da coluna permaneceu constante até ao final da análise. A temperatura do injecto e do detector foi de 250 °C e a razão de “split” de 100:1.

#### 2.2.2.6 Resultados

Através da utilização do “software” da Varian obtiveram-se as percentagens das áreas correspondentes a cada pico. Identificou-se cada ácido gordo esterificado por comparação dos respectivos tempos de retenção com padrões previamente analisados e no caso dos ácidos gordos minoritários, não disponíveis em padrões, recorreu-se ao cálculo do ECL (equivalent chain length).

O resultado foi dado pela média aritmética de, pelo menos, duas determinações e apresenta-se arredondado às centésimas, expresso em percentagem ou em mg/100 g de parte edível. Quando os resultados são expressos em mg/100 g de parte edível recorre-se a um factor correctivo que é calculado de acordo com a fórmula referida por Weihrauch *et al.* (1977).

$$Factor\ correctivo\ (F) = 0,933 - \frac{0,143}{Teor\ gordura\ (\%)}$$

Após o cálculo deste factor correctivo o seu valor foi usado na seguinte fórmula:

$$AG \times F \times G \times 1000$$

sendo:

AG - ácido gordo em %;

F - factor correctivo;

G - massa de gordura, expressa em grama, por grama de parte edível.

#### 2.2.3 Colesterol

A determinação do teor de colesterol foi baseada no método descrito por Naemmi *et al.* (1995), posteriormente modificado por Oehlenschläger (2000).

##### 2.2.3.1 Resumo do processo

Saponificação da amostra por adição de uma solução saturada metanólica de KOH, seguida de hidrólise, através da qual é permitida a libertação das moléculas de colesterol para que este possa assim ser quantificado. Essa quantificação é feita recorrendo à técnica de cromatografia gasosa.



### 2.2.3.2 Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados possuíam grau analítico para cromatografia e foi utilizada água ultra pura (obtida pelo sistema Milli-Q Plus Millipore).

- Ciclohexano > 99,9 % (m/m) (Merck)
- Metanol 99,8 % (m/m) (Merck)
- n-hexano  $\geq$  98,0 % (m/m) (Merck)
- Sulfato de sódio anidro 99,9 % (m/m) (Panreac)
- Hidróxido de potássio  $\geq$  85 % (m/m) (Merck)
- Solução metanólica saturada de hidróxido de potássio
- Cloreto de magnésio 99 % (m/m) (Merck)
- Solução de cloreto de magnésio 1 M
- Padrão de colesterol  $\geq$  99 % (m/m) (Sigma)
- 5 $\alpha$ -colestano  $\geq$  97 % (m/m) (Sigma)
- Solução de 5 $\alpha$ -colestano (0,5 mg/ml) em n-hexano (padrão interno)

### 2.2.3.3 Solução padrão

A partir do padrão de colesterol preparou-se uma solução de 1 mg/ml em n-hexano.

### 2.2.3.4 Equipamentos e utensílios

- Material de uso corrente no laboratório
- Tubos de vidro com rosca
- Balança com precisão de 0,0001 g (Mettler Toledo, AG 204)
- Moinho granulador de laboratório (Retsch, GM 200)
- Liofilizador (Edwards, Modulyo)
- Caixa de Petri
- Frascos para injeção
- Vortex (Heidolph, ReAX)
- Centrífuga (Sigma, 2K 15)
- Banho termostaticado (Kötterman, 3047)
- Evaporador de amostras (Reacti, Therm III)
- Cromatógrafo de fase gasosa (Varian, Star 3400 Cx) (Figura 9) equipado com um auto-amostrador e um detector de ionização de chama. Na separação usou-se hélio como gás de arraste e uma coluna capilar de sílica J&W Scientific (Folsom, USA) CP-Sil 8 CB (0,25 mm d.i.  $\times$  30 m  $\times$  0,25  $\mu$ m)



**Figura 9** – Cromatógrafo de fase gasosa (Varian, Star 3400 Cx).

#### **2.2.3.5 Preparação da amostra**

As amostras para análise (músculo) foram descongeladas à temperatura ambiente e homogeneizadas.

Congelámos uma fracção da amostra homogeneizada, distribuída uniformemente numa caixa de Petri, e colocámo-la no liofilizador durante 48 horas (a uma temperatura de  $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$  e uma pressão de aproximadamente  $10^{-1}$  atmosferas). As amostras liofilizadas e novamente homogeneizadas foram colocadas em sacos de plástico devidamente identificadas (espécie, número), embaladas sob vácuo e armazenadas a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  até posterior análise.

#### **2.2.3.6 Técnica**

##### **2.2.3.6.1 Extracção**

Pesámos cerca de 250 mg de material liofilizado previamente triturado para tubos com rosca, adicionámos 100  $\mu\text{l}$  de padrão interno (5- $\alpha$ -colestano a 0,5 mg/ml em n-hexano) e 2,5 ml da solução metanólica saturada de hidróxido de potássio. Agitámos os tubos em vortex (1 minuto) e colocámo-los em banho-maria a  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 30 minutos. Deixámos arrefecer e juntámos 0,5 ml da solução de cloreto de magnésio 1 M e 2,5 ml de ciclohexano. Após agitação, durante 2 minutos em vortex, centrifugámos a 4000 rpm, durante 4 minutos. Passámos o sobrenadante por uma coluna preparada com algodão e sulfato de sódio anidro e recolhemos num frasco para injeção. Quando necessário concentrámos a amostra, evaporando o solvente com o auxílio de um evaporador de amostras (sob atmosfera de azoto). Adicionámos 100 a 200  $\mu\text{l}$  de n-hexano e transferimos para frascos de injeção com “insert”.

#### 2.2.3.6.2 Análise cromatográfica

O colesterol foi analisado num cromatógrafo em fase gasosa e o volume da amostra injectado foi de 2 µl. A coluna foi sujeita a um perfil de temperatura isotérmico a 280 °C. A temperatura do injector foi de 285 °C e a do detector de 300 °C e a razão de “split” de 100:1. O tempo de análise foi de 20 minutos.

#### 2.2.3.7 Curva de calibração

Traçou-se a curva de calibração a partir das leituras obtidas para as soluções 25; 50; 100; 200 e 250 µg de colesterol com uma quantidade fixa de 5- $\alpha$ -colestano (utilizou-se como solvente n-hexano).

#### 2.2.3.8 Resultados

O colesterol foi identificado por comparação com os tempos de retenção de padrões (Sigma). A sua quantificação foi efectuada com base numa curva de calibração.

O cálculo do teor de colesterol em mg/100 g de produto foi dado pela relação:

$$\frac{C/1000}{M} \times \frac{100-H}{100} \times 100$$

Sendo:

C - teor colesterol expresso em µg;

M - a massa, expressa em grama, da toma para ensaio

H - humidade expressa em %.

O resultado foi calculado com base na determinação de, pelo menos, dois ensaios sobre a mesma amostra.

#### 2.2.4 $\alpha$ -Tocoferol

O teor de  $\alpha$ -tocoferol foi determinado pelo método descrito por Piironen *et al.* (1984) com algumas modificações e no procedimento técnico em uso na Unidade UVPPA do INRB, I.P./L-IPIMAR.

##### 2.2.4.1 Resumo do processo

Extracção da gordura das amostras homogeneizadas. Dissolução do óleo obtido em n-hexano seguida de injeção em Cromatógrafo Líquido de Alta Pressão (HPLC).

##### 2.2.4.2 Reagentes

Todos os reagentes utilizados possuíam grau analítico para cromatografia e foi utilizada água ultra pura (obtida pelo sistema Milli-Q Plus Millipore).

- n-hexano  $\geq 98,0$  % (m/m) (Merck)
- Clorofórmio 99,8 % (m/m) (Merck)

- Solução de metanol/clorofórmio (2:1)
- Butil – hidroxitolueno (BHT) 99 % (m/m) (AnalytiCals)
- Solução de BHT (50 mg/l) em clorofórmio
- Cloreto de sódio 99,5 % (m/m) (Merck)
- Solução saturada de cloreto de sódio
- Solução de BHT (50 mg/l) em n-hexano
- 2-Propanol  $\geq$  99,9 % (m/m) (Merck)
- Solução de n-hexano/2-propanol a 0,7 % (v/v) (Merck)
- Padrão de  $\alpha$ -tocoferol 95 % (m/m) (Sigma)

#### **2.2.4.3 Solução padrão**

A partir do padrão de  $\alpha$ -tocoferol preparou-se uma solução de 1 mg/ml em n-hexano.

#### **2.2.4.4 Aparelhos e utensílios**

- Material de uso corrente no laboratório
- Frascos para injeção
- Balança com precisão de 0,0001 g (Mettler Toledo, AG 204)
- Moinho granulador de laboratório (Retsch GM 200)
- Homogeneizador Ultra-Turrax (IKA, T25)
- Rotavapor (Büchi, RE 121)
- Evaporador de amostras (Reacti, Therm III)
- Ultrasons (Sonorex, DK 255P)
- HPLC (Jasco, PU-980) (Figura 10) equipado com um injetor automático (Jasco, AS-950-10), detector de fluorescência (Jasco, FP – 1520), bomba de gradiente (Jasco, LG-980-02) e desgaseificador (Gastor, GT-104). Usou-se uma coluna de sílica Lichrosorb Si 60-5 (250 mm  $\times$  3 mm d.i., Chrompack) protegida com uma pré-coluna de sílica (S2) – SS (10 mm  $\times$  2 mm d.i., Chrompack).



**Figura 10** – Cromatógrafo líquido de alta pressão (Jasco, PU-980).

#### **2.2.4.5 Preparação da amostra**

As amostras para análise (músculo) foram descongeladas à temperatura ambiente e homogeneizadas.

#### **2.2.4.6 Técnica**

##### **2.2.4.6.1 Extracção**

Extracção da gordura, baseada no método descrito por *Bligh & Dyer* (1959).

As soluções de metanol/clorofórmio (2:1), NaCl, clorofórmio com BHT, saturada e a água ultra pura foram arrefecidas a 5°C antes da sua utilização.

Pesámos cerca de 12,5 g da amostra e adicionámos 37,5 ml da solução metanol/clorofórmio (2:1) e agitámos entre 2 a 7 minutos no Ultra-Turrax. Adicionámos 5 ml da solução de NaCl saturada e homogeneizámos 7 minutos no Ultra-Torrax. Adicionámos 12,5 ml de clorofórmio com BHT e agitámos 30 segundos a 5 minutos no Ultra-Torrax. Adicionámos 12,5 ml de água ultra pura fria e homogeneizámos 30 segundos a 5 minutos no Ultra-Torrax. Colocámos a amostra no banho de ultrasons durante 10 minutos. Filtrámos para Kitasato, utilizando um funil de Buchner. Transferimos o filtrado para uma ampola de decantação. Recolhemos a fase orgânica (inferior) filtrando com papel de filtro com sulfato de sódio anidro para balão em forma de pêra previamente pesado. Evaporamos o clorofórmio em rotavapor (banho a 40 °C, 291 mbar). Pesámos os balões em forma de pêra. Recolhemos uma quantidade de óleo conhecida com um volume conhecido da solução de BHT em n-hexano.

Transferimos a mistura obtida (óleo/BHT em n-hexano) para frascos para injeção. Quando necessário concentrámos a amostra, evaporando o solvente com o

auxílio de um evaporador de amostras (com uma corrente de azoto). Adicionámos 100 a 200 µl de n-hexano e transferimos para frascos para injeção com “insert”.

#### **2.2.4.6.2 Análise cromatográfica**

Injectámos 20 µl da mistura num sistema de HPLC. Selecionámos o comprimento de onda de excitação de 292 nm e de emissão de 324 nm. Usámos como fase móvel uma mistura de n-hexano/2-propanol a 0,7 % com um fluxo de 0,5 ml/minuto.

#### **2.2.4.7 Curva de calibração**

Traçou-se duas curvas de calibração a partir das leituras obtidas para as soluções 1; 2; 5; 8; 10; 15 e 20 e para 8, 20; 40; 50; 100 e 200 µg de α-Tocoferol (utilizou-se como solvente n-hexano)

#### **2.2.4.8 Resultados**

O α-tocoferol foi identificado por comparação com os tempos de retenção de padrões. Os picos foram integrados usando o software Borwin na versão 1.2.

O cálculo do teor de α-tocoferol, expresso em mg/100 g, foi dado pela relação:

$$\frac{A}{10 \times m}$$

Sendo:

m - massa, em grama, da toma para análise;

A - teor de α-tocoferol expresso em µg/ml.

O resultado foi calculado com base na determinação de, pelo menos, dois ensaios sobre a mesma amostra.

### **2.2.5 Doseamento dos elementos**

#### **2.2.5.1 Sódio, magnésio, cobre e manganês**

Os teores de sódio (Na), magnésio (Mg), cobre (Cu) e manganês (Mn) foram determinados pelo método espectrofotométrico de absorção atómica de chama, baseado na metodologia proposta por Jorhem (2000) e nos procedimentos técnicos em uso na Unidade U-VPPA do INRB, I.P./L-IPIMAR.

##### **2.2.5.1.1 Resumo do processo**

Incineração da amostra seguida de solubilização em ácido nítrico. Após diluição da amostra procedeu-se à leitura do teor do elemento a dosear (Na, Mg, Cu e Mn) por absorção atómica de chama.

#### **2.2.5.1.2 Reagentes e soluções**

Todos os reagentes utilizados possuíam um elevado grau de pureza e foi utilizada água ultra pura (obtida pelo sistema Milli-Q Plus Millipore).

- Ácido nítrico concentrado 65 % (m/m) (Merck)
- Solução de ácido nítrico 15 % (v/v)
- Solução de ácido nítrico 10 % (v/v)
- Solução de ácido nítrico 5 % (v/v)
- Solução padrão de sódio (1000 mg/l) (Nitrato de sódio, em ácido nítrico 0,5M) (Merck)
- Solução padrão de magnésio (1000 mg/l) (Nitrato de magnésio, em ácido nítrico 0,5 M) (Merck)
- Solução padrão de cobre (1000 mg/l) (Nitrato de cobre II, em ácido nítrico 0,5 M) (Merck)
- Solução padrão de manganês (1000 mg/l) (Nitrato de manganês II, em ácido nítrico 0,5 M) (Merck)

#### **2.2.5.1.3 Solução padrão**

Preparámos 100 ml de uma solução padrão de concentração 10 µg/ml a partir da solução padrão a 1000 mg/l, respectiva para cada elemento, utilizando como solvente ácido nítrico a 5 %.

#### **2.2.5.1.4 Equipamento e utensílios**

- Material de uso corrente no laboratório descontaminado com solução de ácido nítrico a 10 %
- Espectrofotómetro de absorção atómica de chama (Varian, Spectr AA 55B) (Figura 11), a chama utilizada foi de ar-acetileno
- Computador (Dell Optip, GXE 70SD) com software de aquisição de dados
- Lâmpadas de cátodo-oco (Varian) para a leitura do sódio, magnésio, cobre e manganês
- Balança com precisão de 0,0001 g (Mettler Toledo, AG 204)
- Moinho granulador de laboratório (Retsch, GM 200)
- Estufa regulável a  $100 \pm 5$  °C (Cassel)
- Mufla regulável a 500 °C (Heraeus, tipo MR 170 E)
- Placa eléctrica (Schott-Geräte, CK 111)
- Cadinhos de quartzo

- Filtros (Macherey-Nagel 640 w,  $\varnothing = 70$  cm)



**Figura 11** – Espectrofotômetro de absorção atômica de chama (Varian, Spectr AA 55B).

#### **2.2.5.1.5 Preparação da amostra**

As amostras para análise (músculo) foram descongeladas à temperatura ambiente e homogeneizadas.

#### **2.2.5.1.6 Processo analítico**

##### **2.2.5.1.6.1 Incineração da amostra**

Pesámos a amostra homogeneizada (5 g para o Na e Mg e 10 g para o Cu e Mn), para cadinho. Colocámos o cadinho na estufa a  $\pm 100$  °C durante uma noite. Em seguida, colocámos na mufla, elevando a temperatura, muito lentamente, até 500 °C. Deixámos durante 16 horas (uma noite) para calcinar. Retirámos da mufla e deixámos arrefecer a amostra à temperatura ambiente. As cinzas foram humedecidas com ácido nítrico concentrado. Este foi evaporado, cuidadosamente até à secura, sobre uma placa aquecida. Levámos novamente à mufla a  $\pm 400$  °C, durante 20 a 30 minutos até obtenção de cinza branca.

##### **2.2.5.1.6.2 Doseamento**

No caso do sódio e magnésio adicionámos 6 ml de ácido nítrico a 15 % quente para dissolver as cinzas e transferimos, filtrando, para balão de 25 ml. O cadinho foi lavado com 6 ml do mesmo ácido e posteriormente com água ultra pura. Ambas as soluções de lavagem foram passadas pelo filtro. Deixámos arrefecer e perfizemos o volume com água ultra pura.

No caso do cobre e manganês adicionámos 3 ml de ácido nítrico a 15 % quente para dissolver as cinzas e transferimos, filtrando, para balão de 10 ml. O cadinho foi lavado com 2 ml do mesmo ácido e posteriormente com água ultra pura. Ambas as



soluções de lavagem foram passadas pelo filtro. Deixámos arrefecer e perfizemos o volume com água ultra pura.

A leitura da absorção efectuou-se ao comprimento de onda correspondente para cada elemento a analisar (Tabela 1) e registou-se o sinal máximo da absorção obtido pelo aparelho.

**Tabela 1** – Condições de operação para o espectrofotómetro de absorção atómica de chama.

Condições	Na	Mg	Cu	Mn
Comprimento de onda (nm)	589,0	285,2	324,8	279,5
Intensidade (m/A)	5	4	4	5
Abertura da fenda (nm)	0,5	0,5	0,5	0,2

#### 2.2.5.1.7 Ensaio em branco

No caso do Na e Mg, num balão de 25 ml adicionou-se 12 ml de ácido nítrico a 15 % e fez-se o volume final com água ultra pura.

No caso do Cu e Mn, num balão de 10 ml adicionou-se 5 ml de ácido nítrico a 15 % e fez-se o volume final com água ultra pura.

#### 2.2.5.1.8 Curva de calibração

A partir da solução a 10 µg/ml, preparada como indicado no ponto 2.2.5.1.3, foram preparadas as soluções padrão utilizadas na curva de calibração (Tabela 2).

Traçou-se a curva de calibração a partir das leituras obtidas para as soluções da curva de calibração (utilizou-se como solvente ácido nítrico a 5 %).

**Tabela 2** – Curva de calibração para o sódio (Na), magnésio (Mg), cobre (Cu) e manganês (Mn).

Curva de Calibração					
Elemento	Padrões (µg/ml)				
Na	0,20	0,40	0,60	0,80	1,00
Mg	0,10	0,15	0,20	0,30	0,40
Cu	0,30	0,50	0,80	1,00	1,50
Mn	0,10	0,30	0,50	1,00	1,50

### 2.2.5.1.9 Resultados

O cálculo do teor dos elementos (Na, Mg, Cu e Mn), em mg/kg de peso húmido, foi dado pela relação:

$$\frac{(A \times V)}{m}$$

Sendo:

A - leitura em µg;

m - massa, em grama, da toma para análise;

V - volume da dissolução da amostra.

O resultado foi dado pela média aritmética de, pelo menos, duas determinações paralelas.

### 2.2.5.2 Potássio, cloro, enxofre, cálcio, zinco, ferro, selénio, cobre, manganês e arsénio por EDFRX

O teor dos diversos elementos foi determinado por espectroscopia dispersiva por fluorescência de raios-X (EDFRX), baseado na metodologia descrita por Carvalho *et al.* (2005) e Custódio *et al.* (2005), no laboratório do Centro de Física Atómica (secção de Física Atómica Experimental) da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa.

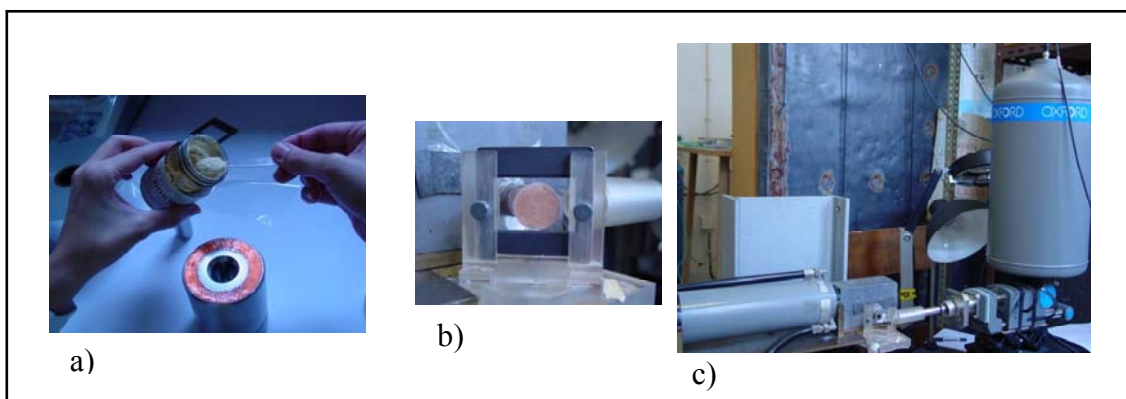
#### 2.2.5.2.1 Resumo do processo

Utilização de uma fonte de radiação X para ionizar os níveis internos dos átomos constituintes da amostra. Na reorganização do átomo e regresso ao estado fundamental, estes átomos podem libertar o excesso de energia através da emissão de um fóton X, de energia igual à diferença de energia de ligação dos níveis entre os quais se deu a transição. Esta radiação é característica do elemento. A detecção e análise deste espectro permitem a identificação e quantificação dos elementos constituintes da amostra.

#### 2.2.5.2.2 Equipamento e utensílios

- Cilindro
- Prensa (Graseby, Speac)
- Diapositivos (50×50mm) com película de *mylar*.
- Cola
- O EDFRX (Figura 12) é constituído por um tubo de raio X (Philips, PW 2184/00) constituído por um ânodo de tungsténio alimentado por uma fonte de alta tensão (Philips, PW 1140/00/60; 100 kV, 80 mA) equipado com um alvo secundário intermutável de molibdénio (Mo) (que permite obter uma radiação de

excitação praticamente monocromática, correspondentes às riscas  $K_{\alpha}$  (17,44 KeV) e  $K_{\beta}$  (19,60 KeV), do Mo). O tubo de raios X, o alvo secundário e a amostra estão numa geometria tri-axial (permite uma redução do ruído de fundo e aumenta o contraste analítico devido à polarização da radiação). Ambas as radiações de excitação e a resultante da amostra são direccionadas através de colimadores de prata (reduzem a radiação difundida e melhoram os limites de detecção). A radiação característica emitida pelos elementos presentes na amostra é detectada por um detector de Si(Li) da Oxford, com uma área activa de 30 mm<sup>2</sup> e uma janela de berílio de 8 µm de espessura que se encontra a 27 mm da amostra. A resolução do detector é de 136 eV a 5,9 KeV e o sistema de aquisição consiste no analisador multicanal Nucleus PCA III, sendo o tratamento de sinal e correcções ao tempo morto ajustadas automaticamente por um processador comercial da Oxford. O espectro é obtido através do software Quantum MCA.



**Figura 12** – a) Preparação da pastilha b) Diapositivo com a amostra, já em patilha c) Espectrómetro de fluorescência de raios-X.

#### 2.2.5.2.3 Preparação da amostra

As amostras para análise (músculo e fígado) foram descongeladas à temperatura ambiente e homogeneizadas.

Congelámos uma fracção da amostra homogeneizada, distribuída uniformemente numa caixa de Petri, e colocámo-la no liofilizador durante 48 horas (a uma temperatura de -45 °C e uma pressão de aproximadamente 10<sup>-1</sup> atmosferas). As amostras liofilizadas e novamente homogeneizadas foram colocadas em sacos de plástico devidamente identificadas (espécie, número), embaladas sob e armazenadas a -20 °C até posterior análise.

#### 2.2.5.2.4 Processo analítico

##### 2.2.5.2.4.1 Preparação das pastilhas

Colocámos a amostra liofilizada (uma colher de café) num cilindro e comprimimo-la numa prensa à pressão de 10 Torr, formando uma pastilha circular com cerca de 2 cm de diâmetro e 1mm de espessura. Colámos a pastilha à película de *mylar* do diapositivo. A escolha destes materiais deve-se ao facto de terem baixo número atómico, não sendo detectada a sua radiação característica.

##### 2.2.5.2.4.2 Análise por espectroscopia

Colocámos o diapositivo contendo a amostra num suporte e ligámos o equipamento. Regulámos a corrente para 20 mA e uma tensão de 50 Kv. Cada pastilha foi exposta à radiação durante 1000 segundos.

#### 2.2.5.2.5 Resultados

A partir dos espectros obtidos (energia *versus* intensidade) determinou-se a energia correspondente a cada pico observado. Os elementos existentes na amostra foram identificados comparando essas energias com as energias teóricas correspondentes aos diferentes elementos (Tabela de energias de emissão de raios-X). Após calculada a intensidade de cada radiação, a concentração dos elementos detectados foi determinada através da expressão:

$$I_i = I_0 K_i c_i m C_i$$

Sendo:

$I_i$  - intensidade da radiação X característica do elemento i

$I_0$  - intensidade da radiação incidente

$K_i$  - factor de calibração experimental

$C_i$  - concentração do elemento i

m - massa superficial da amostra ( $\text{g cm}^{-2}$ )

$C_i$  - factor de atenuação

Essa quantificação foi efectuada através do “software” “XRF - Quantitative Calculation (fundamental parameters)” para ambiente Windows.

O resultado do teor de cada elemento analisado, expresso em mg/kg de peso húmido, foi calculado tendo em conta o seu teor em mg/kg de peso seco (dado pelo “software”) e a humidade de cada amostra analisada.

O resultado é dado pela média aritmética de, pelo menos, duas determinações paralelas.

### **2.2.5.3 Mercúrio**

#### **2.2.5.3.1 Mercúrio total**

A determinação do teor de mercúrio total foi baseada no método descrito na norma US EPA 7473 (EPA, 1998) e no procedimento técnico em uso na Unidade U-VPPA do INRB, I.P./L-IPIMAR.

##### **2.2.5.3.1.1 Resumo do processo**

Decomposição térmica e química da amostra em forno. Retenção selectiva do mercúrio numa amálgama de ouro seguida de libertação após aquecimento. Arrasto do vapor de mercúrio pelo oxigénio até à célula de absorção do espectrofotómetro. Leitura da absorção no comprimento de onda de 253,7 nm.

##### **2.2.5.3.1.2 Reagentes e soluções**

Todos os reagentes utilizados possuíam um elevado grau de pureza e foi utilizada água ultra pura (obtida pelo sistema Milli-Q Plus Millipore).

- Óxido de alumínio 90 activo básico (0,063-0,200) (Merck)
- Ácido nítrico 65 % (m/m) (Merck)
- Solução de ácido nítrico 1 % (v/v)
- Solução padrão de mercúrio 1000 mg/l (Nitrato de mercúrio II em 0,5 M de ácido nítrico) (Merck)

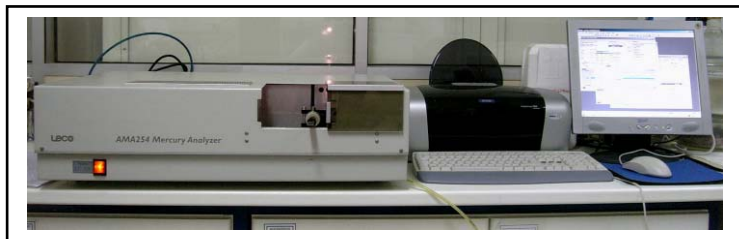
##### **2.2.5.3.1.3 Solução padrão**

Preparou-se 100 ml de uma solução padrão de concentração 10 µg/ml a partir da solução padrão de mercúrio (1000 mg/l), utilizando como solvente ácido nítrico a 1 %.

A partir da solução a 10 µg/ml foi preparada uma solução padrão de 0,1 µg/ml e uma de 0,005 µg/ml.

##### **2.2.5.3.1.4 Equipamentos e utensílios**

- Material de uso corrente no Laboratório.
- Balança com precisão de 0,0001 g (Mettler Toledo, AG 204)
- Moinho granulador de laboratório (Retsch, GM 200)
- Barquinhas de níquel
- Analisador de mercúrio (Leco, AMA 254) (Figura 13)



**Figura 13** – Analisador de mercúrio (Leco, AMA 254).

#### **2.2.5.3.1.5 Preparação da Amostra**

As amostras para análise (músculo e fígado) foram descongeladas à temperatura ambiente e homogeneizadas.

Para a leitura do teor de mercúrio total no material liofilizado, congelámos uma fracção da amostra homogeneizada, distribuída uniformemente numa caixa de Petri, e colocámo-la no liofilizador durante 48 horas (a uma temperatura de -45 °C e uma pressão de aproximadamente  $10^{-1}$  atmosferas). As amostras liofilizadas e novamente homogeneizadas foram colocadas em sacos de plástico devidamente identificadas (espécie, número), embaladas sob vácuo e armazenadas a -20 °C até posterior análise.

#### **2.2.5.3.1.6 Técnica**

Pesámos até 100 mg da amostra para barquinha. Adicionámos um pouco de óxido de alumínio até cobrir a amostra. Colocámos a barquinha no analisador de mercúrio e efectuámos a leitura de acordo com as instruções do aparelho. Retirámos a barquinha e limpámo-la. No fim da sessão de trabalho colocámos a barquinha em mufla a 700 °C, durante uma hora, para descontaminar.

#### **2.2.5.3.1.7 Ensaio em branco**

Colocámos um pouco de óxido de alumínio na barquinha e efectuámos a leitura no equipamento.

#### **2.2.5.3.1.8 Curva de calibração**

Foi aceite a curva que está introduzida no software do analisador (0,10; 0,30; 1,00; 3,00; 10,00; 20,00; 30,00; 36,00 ng de mercúrio).

#### **2.2.5.3.1.9 Resultados**

O tratamento dos resultados foi feito através do software do analisador de mercúrio.

O cálculo do teor de mercúrio, expresso em mg/kg, foi dado pela relação:

$$\frac{A}{m}$$

Sendo:

m - massa, em miligrama, da toma para análise;

A - leitura dada pelo analisado em ng.

Os resultados são dados pela média aritmética de, pelo menos, duas determinações paralelas.

#### **2.2.5.3.2 Mercúrio Orgânico**

A determinação do teor de mercúrio orgânico foi baseada no método descrito por Scerbo & Barghigiani (1998).

##### **2.2.5.3.2.1 Resumo do processo**

Hidrólise da amostra liofilizada com ácido bromídrico seguida de extracção dos compostos orgânicos com tolueno. Remoção dos compostos orgânicos de mercúrio usando uma solução de cisteína.

Decomposição térmica e química da amostra (cisteína contendo os compostos orgânicos de mercúrio) em forno. Retenção selectiva do mercúrio numa amálgama de ouro seguida de libertação após aquecimento. Arrasto do vapor de mercúrio pelo oxigénio até à célula de absorção do espectrofotómetro. Leitura da absorção no comprimento de onda de 253,7 nm.

##### **2.2.5.3.2.2 Reagentes e soluções**

Todos os reagentes utilizados possuíam um elevado grau de pureza e foi utilizada água ultra pura (obtida pelo sistema Milli-Q Plus Millipore).

- Ácido bromídrico 47 % (m/m) (Merck)
- Tolueno  $\geq 99,9$  % (m/m) (Merck)
- Cloridrato monohidratado de L-cisteína  $\geq 99,9$  % (m/m) (Merck)
- Sulfato de sódio anidro  $\geq 99,99$  % (m/m) (Merck)
- Acetato de sódio  $\geq 99,99$  % (m/m) (Merck)
- Solução de cisteína (1 % cisteína em 12,5 %  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e 0,8 % de  $\text{NaCH}_3\text{CO}_2$ )
- Óxido de alumínio 90 activo básico (0,063-0,200) (Merck)
- Ácido nítrico a 65 % (m/m) (Merck)
- Solução de ácido nítrico 1 % (v/v)
- Solução padrão de mercúrio 1000 mg/l (Nitrato de mercúrio II em 0,5 M de ácido nítrico)

#### 2.2.5.3.2.3 Solução padrão

Preparou-se 100 ml de uma solução padrão de concentração 10 µg/ml a partir da solução padrão de mercúrio (1000 mg/l), utilizando como solvente ácido nítrico a 1 %.

A partir da solução a 10 µg/ml foi preparada uma solução padrão de 0,1 µg/ml e uma de 0,005 µg/ml.

#### 2.2.5.3.2.4 Equipamentos e utensílios

- Material de uso corrente no Laboratório
- Balança com precisão de 0,0001 g (Mettler Toledo, AG 204)
- Moinho granulador de laboratório (Retsch, GM 200)
- Vortex (Heidolph, ReAX)
- Tubos de centrífuga em FEP com tampa de rosca em ETFE (Nalgene)
- Centrifuga (Sigma, 3K29)
- Barquinhas de níquel
- Analisador de mercúrio (AMA 254, Leco)

#### 2.2.5.3.2.5 Preparação da Amostra

As amostras para análise (músculo e fígado) foram descongeladas à temperatura ambiente e homogeneizadas.

Congelámos uma fracção da amostra homogeneizada, distribuída uniformemente numa caixa de Petri, e colocámo-la no liofilizador durante 48 horas (a uma temperatura de -45 °C e uma pressão de aproximadamente 10<sup>-1</sup> atmosferas). As amostras liofilizadas e novamente homogeneizadas foram colocadas em sacos de plástico devidamente identificadas (espécie, número), embaladas sob vácuo e armazenadas a -20 °C até posterior análise.

#### 2.2.5.3.2.6 Técnica

Pesámos cerca de 200 mg da amostra liofilizada para tubo de centrífuga. Adicionámos 10 ml de ácido bromídrico e 20 ml de tolueno. Agitámos a mistura durante aproximadamente 5 minutos (manualmente e em vortex) e centrifugámos durante 20 minutos a 3000 rpm. Retirámos 15 ml da fase orgânica e colocámos para outro tubo ao qual se adicionou previamente 6 ml da solução de cisteína. Adicionámos 15 ml de tolueno ao tubo inicial contendo o ácido bromídrico e repetimos o processo. Finalmente, agitámos (manualmente e em vortex) o tubo contendo a solução de cisteína e tolueno (30 ml) e centrifugámos durante 20 minutos a 3000 rpm. Transferimos para outro tubo de centrífuga 3 ml da solução de cisteína para posterior análise. Dessa



solução retirámos entre 100 µl a 500 µl para barquinha. Colocámos a barquinha no analisador de mercúrio e efectuámos a leitura de acordo com as instruções do aparelho.

#### **2.2.5.3.2.7 Ensaio em branco**

O ensaio em branco é efectuado de acordo com o descrito em 2.2.5.3.2.6 exceptuando o passo de pesagem da amostra que não se efectua.

#### **2.2.5.3.2.8 Curva de Calibração**

Foi aceite a curva que está introduzida no software do analisador (0,10; 0,30; 1,00; 3,00; 10,00; 20,00; 30,00; 36,00 ng de mercúrio).

#### **2.2.5.3.2.9 Resultados**

O cálculo do teor de mercúrio orgânico ( $Hg_{Org}$ ), expresso percentagem, é dado pela relação:

$$\left[ \frac{\frac{6}{Va} \times (a - b)}{m} \times 1,07 \right] \times \left[ \frac{100}{c} \right]$$

Sendo:

Va - volume de amostra, em µl, analisado no equipamento;

a - concentração lida, em ng, da amostra;

b - concentração lida, em ng, do branco;

m - massa, em grama, da toma para análise;

c - concentração lida, em mg/kg de peso seco, de mercúrio total;

O cálculo do teor de mercúrio orgânico ( $Hg_{Org}$ ), expresso em mg/kg peso húmido, é dado pela relação:

$$\frac{C \times Hg_{Org} \%}{100}$$

Sendo:

C - concentração lida, em mg/kg de peso húmido, de mercúrio total;

$Hg_{Org} \%$  - percentagem de mercúrio orgânico na amostra;

O cálculo do mercúrio inorgânico ( $Hg_{Inorg}$ ), expresso em mg/kg, é dado pela relação:

$$Hg_T - Hg_{Org}$$

Sendo:

$Hg_T$  - concentração de mercúrio total, em mg/kg peso húmido, na amostra

Hg<sub>Org</sub> - concentração de mercúrio orgânico, em mg/kg peso húmido, na amostra

Os resultados foram dados pela média aritmética de, pelo menos, duas determinações paralelas efectuadas.

#### **2.2.5.4 Cádmio e chumbo**

A determinação do teor de cádmio e chumbo foi baseada no método descrito na norma NP EN 14084 (CEN, 2003) e no procedimento técnico em uso na Unidade U-VPPA do INRB, I.P./L-IPIMAR.

##### **2.2.5.4.1 Resumo do processo**

Digestão das amostras, em vasos fechados, por microondas, com uma mistura de ácido nítrico e peróxido de hidrogénio. Diluição da solução resultante com água e determinação dos elementos por absorção atómica em forno de grafite.

##### **2.2.5.4.2 Reagentes e soluções**

Todos os reagentes utilizados possuíam um elevado grau de pureza e foi utilizada água ultra pura (obtida pelo sistema Milli-Q Plus Millipore).

- Ácido nítrico a 65 % (m/m) (Merck)
- Peróxido de hidrogénio a 30 % (m/m) (Merck)
- Solução de ácido nítrico a 20 % (v/v)
- Solução de ácido nítrico a 5 % (v/v)
- Solução de ácido nítrico a 1 % (v/v)
- Solução padrão de cádmio 1000 mg/l (Nitrato de cádmio em 0,5 M de ácido nítrico) (Merck)
- Solução padrão de chumbo 1000 mg/l (Nitrato de chumbo em 0,5 M de ácido nítrico) (Merck)
- Solução de ácido ortofosfórico (1000 µg/ml) (solução de modificador para o cádmio)
- Solução de fosfato de amónio monobásico (5000 µg/ml) (solução de modificador para o chumbo).

##### **2.2.5.4.3 Solução padrão**

###### **2.2.5.4.3.1 Solução padrão para o cádmio**

Preparou-se 100 ml de uma solução padrão de concentração 10 µg/ml a partir da solução padrão de cádmio (1000 mg/l), utilizando como solvente ácido nítrico a 5 %. A partir desta preparou-se uma solução padrão intermédia de chumbo a 1 µg/ml em ácido

nítrico 5 % e a partir desta uma de 10 ug/l. A solução padrão de trabalho de cádmio a 1 ug/l em ácido nítrico 1 % foi preparada a partir da solução a 10 ug/l.

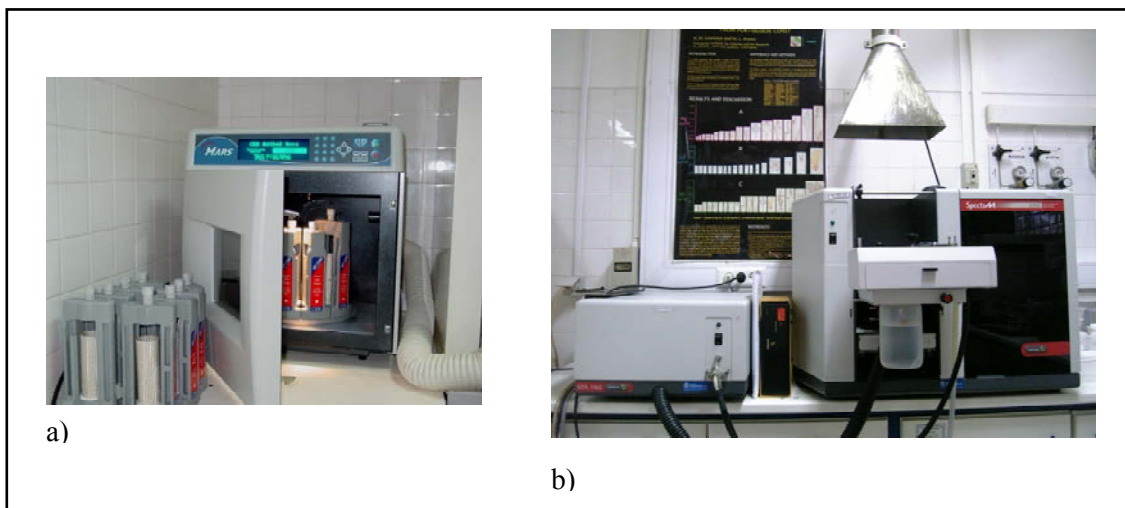
#### **2.2.5.4.3.2 Solução padrão para o chumbo**

Preparou-se 100 ml de uma solução padrão de concentração 10 ug/ml a partir da solução padrão de chumbo (1000 mg/l), utilizando como solvente ácido nítrico a 5 %.

A partir desta preparou-se uma solução padrão intermédia de chumbo 100 ug/l em ácido nítrico 5 %. A solução padrão de trabalho de chumbo a 20 ug/l em ácido nítrico 1 % foi preparada a partir da solução a 100 ug/l.

#### **2.2.5.4.4 Equipamentos e utensílios**

- Material de uso corrente no laboratório descontaminado com solução de ácido nítrico a 20 %
- Balança com precisão de 0,0001 g (Mettler Toledo, AG 204)
- Moinho granulador de laboratório (Retsch, GM 200)
- Microondas (CEM, MARS 5)
- Vasos de digestão, capacidade 100 ml, com resistência a pressões até 2,4 MPa
- Balões volumétricos de 25 ml em PMP
- Espectrofotômetro de absorção atômica – forno de grafite (Varian, Spectr AA 220Z)
- Computador (Dell Optip, GXE 70SD) com software de aquisição de dados
- Impressora (Epson Stylus, C86)
- Lâmpada de cátodo oco (Varian), para leitura do cádmio (comprimento de onda de 228,8 nm)
- Lâmpada de cátodo oco (Varian), para leitura do chumbo (comprimento de onda de 217,0 nm)
- Tubos de grafite
- Tubos de plástico, capacidade 2 ml, para leitura das amostras.



**Figura 14** – a) Microondas (CEM, MARS 5) b) Espectrofotômetro de absorção atômica – forno de grafite (Varian, Spectr AA 220Z).

#### 2.2.5.4.5 Preparação da Amostra

As amostras para análise (músculo e fígado) foram descongeladas à temperatura ambiente e homogeneizadas.

#### 2.2.5.4.6 Técnica

##### 2.2.5.4.6.1 Digestão

Pesámos até 1,5 g da amostra para vaso de digestão. Adicionámos 4 ml de ácido nítrico a 65 % e 1 ml de peróxido de hidrogénio a 30 %. Selámos o vaso, e colocámo-lo no microondas. Seleccionámos o programa de acordo com a Tabela 3.

**Tabela 3** – Programa do microondas (6 ou mais vasos de digestão).

Passos (n.º)	Potência (watts)	Rampa (min.)	Pressão (psi)	Temperatura(°C)	Tempo (min.)
1	1200	20	350	210	15

##### 2.2.5.4.6.2 Diluição

Removemos os vasos de digestão do microondas e deixámos arrefecer antes de os abrir. Abrimos os vasos e passámos com água ultrapura a tampa e as paredes. Perfizemos em balão volumétrico de 25 ml com água ultrapura.

##### 2.2.5.4.6.3 Leitura em espectrofotômetro de absorção atômica por forno de grafite

Passámos para o tubo de leitura as amostras, os padrões de controlo e o branco e colocámos no auto-mostrador do espectrofotômetro. Colocámos também os recipientes com o modificador (solução de ácido ortofosfórico para o Cd e de fosfato de amónio monobásico para o Pb), com a solução de ácido nítrico a 1 % e com a solução padrão de

trabalho. Programámos o auto-analisador para dispensar um determinado volume total de injeção no forno de grafite, geralmente 15 µl, e fizemos duas injeções por amostra.

Na Tabela 4 mostra-se os parâmetros instrumentais aplicáveis ao espectrofotómetro para leitura do cádmio.

**Tabela 4** – Parâmetros instrumentais para determinação de cádmio ( $\lambda=228,8$ ) por espectrofotometria de absorção atómica em forno de grafite.

Passo (n.º)	Temperatura (°C)	Tempo (seg.)	Fluxo de gás (l/min)	Gás
1	85	5,0	3.0	Argón
2	95	40,0	3.0	Argón
3	120	10,0	3.0	Argón
4	350	5,0	3.0	Argón
5	350	1,8	3.0	Argón
6	350	2,0	0	Argón
7*	1800	0,8	0	Argón
8*	1800	2,0	0	Argón
9	1800	2,0	3.0	Argón

\* - leitura do elemento

Na tabela 5 mostra-se os parâmetros instrumentais aplicáveis ao espectrofotómetro para leitura do chumbo.

**Tabela 5** – Parâmetros instrumentais para determinação de chumbo ( $\lambda=217,0$  nm) por espectrofotometria de absorção atómica em forno de grafite.

Passo (n.º)	Temperatura (°C)	Tempo (seg.)	Fluxo de gás (l/min)	Gás
1	85	5,0	3.0	Argón
2	95	40,0	3.0	Argón
3	120	10,0	3.0	Argón
4	500	5,0	3.0	Argón
5	500	1,0	3.0	Argón
6	500	2,0	0	Argón
7*	2100	0,9	0	Argón
8*	2100	2,0	0	Argón
9	2100	2,0	3.0	Argón

\* - leitura do elemento

#### 2.2.5.4.7 Ensaio em branco

Idêntico ao descrito em 2.2.5.4.6 com excepção da pesagem da amostra.

#### 2.2.5.4.8 Curva de calibração

##### 2.2.5.4.8.1 Curva de calibração para o cádmio

A partir da solução de 1 ug/l de cádmio o equipamento efectua uma curva de calibração (teores de cádmio de 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1 µg/l).

##### 2.2.5.4.8.2 Curva de calibração para o chumbo

A partir da solução de 20 ug/l de chumbo o equipamento efectua uma curva de calibração (teores de chumbo de 2, 4, 6, 8, 12 e 16 µg/l).

#### 2.2.5.4.9 Resultados

O cálculo do teor de cádmio, expresso em miligramas por quilograma de massa húmida, é dado pela relação:

$$\frac{(a - b) * V}{m}$$

Sendo:

a - concentração na solução da amostra em mg/l;

b - concentração na solução do branco em mg/l;

V - volume da solução da amostra em ml;

m - massa, em gramas, da toma para análise.

O resultado apresenta-se arredondado às décimas e é dado pela média aritmética de, pelo menos, duas determinações paralelas.

### 2.3 Validação das técnicas analíticas

As técnicas realizadas no INRB, I.P./L-IPIMAR, na Unidade U-VPPA, estão validadas de acordo com o Guia da Relacre 2000, com Normas ISO 5725 (1994) (Accuracy (Trueness and Precision) of measurement methods and results) e com os Guias do IPAC (Instituto Português de Acreditação) sobre acreditação (entre eles o Guia para Acreditação de Laboratórios de Química).

O laboratório de Bromatologia, da Unidade U-VPPA, onde se realizaram técnicas utilizadas para a determinação da humidade, cinza, gordura, mercúrio total, cádmio e chumbo está acreditado pelo IPAC para a realização das mesmas.

A técnica de determinação dos elementos por EDFRX está validada pelo laboratório do Centro de Física Atómica (secção de Física Atómica Experimental) da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa.

No Anexo II (Quadro I, II, III e IV) apresentam-se alguns parâmetros da validação, tais como a Exactidão e Limite de Detecção.

## 2.4 Cálculo de parâmetros nutricionais

### 2.4.1 Valor energético

Para o cálculo do valor energético, expresso em kcal/100 g, utilizou-se a seguinte fórmula:

$$(G\% \times 9) + (P\% \times 4) + (HC\% \times 2)$$

sendo:

G % - percentagem de gordura

P % - percentagem de proteína

HC % - percentagem de hidratos de carbono (considerado como irrelevante)

[baseado na fórmula descrita por FAO (1989)]

### 2.4.2 Índice Poli./Sat.

Para o cálculo do índice Poli./Sat. utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\frac{\sum \text{Polinsaturados}}{\sum \text{Saturados}} = \frac{(16:3n-3 + 16:4n-3 + 18:2n-6 + 18:3n-3 + 18:4n-3 + 20:2n-6 + 20:4n-6 + 20:4n-3 + 20:5n-3 + 22:2n-6 + 22:4n-6 + 22:5n-6 + 22:5n-3 + 22:6n-3)}{(14:0 + 15:0 + 16:0 + 17:0 + 18:0 + 20:0 + 22:0)}$$

### 2.4.3 Índice n-3/n-6

Para o cálculo do índice n-3/n-6 utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\text{n-3/n-6} = \frac{(16:3n-3 + 16:4n-3 + 18:3n-3 + 18:4n-3 + 20:4n-3 + 20:5n-3 + 22:5n-3 + 22:6n-3)}{(18:2n-6 + 20:2n-6 + 20:4n-6 + 22:2n-6 + 22:4n-6 + 22:5n-6)}$$

[baseada na fórmula descrita por Simopoulos (2002)]

### 2.4.4- Índice de Trombogenicidade (IT)

Para o cálculo do índice IT utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\text{IT} = \frac{[(14:0) + (16:0) + (18:0)]}{[(0.5 \times \sum \text{Mono.} (16:1n-9 + 16:1n-7 + 17:1 + 18:1n-9 + 18:1n-7 + 20:1n-9 + 20:1n-7 + 22:1n-11 + 22:1n-9 + 24:1n-9) + (0.5 \times \text{Poli. n-6}) + (3 \times \text{Poli. n-3}) + (\text{n-3/n-6})]}$$

[baseada na fórmula descrita por Ulbricht & Southgate (1991)]

### 2.4.5 - Índice de aterogenicidade (IA)

Para o cálculo do índice IA utilizou-se a seguinte fórmula:

$$IA = [12:0^a + (4 \times 14:0) + (16:0)] / [\Sigma \text{Mono.} + \Sigma \text{Poli. n-3} + \Sigma \text{Poli. n-6}]$$

a - o 12:0 não foi considerado no cálculo pois na maioria das amostras não foi detectado.

[baseada na fórmula descrita por Ulbricht & Southgate (1991)]

### 2.4.6 Índice hipocolesterolémicos/hipercolesterolémicos (h/H)

Para o cálculo da razão h/H utilizou-se a seguinte fórmula:

$$h/H = [18:1n-9 + 18:2n-6 + 20:4n-6 + 18:3n-3 + 20:5n-3 + 22:5n-3 + 22:6n-3] / [14:0 + 16:0]$$

[baseada na fórmula descrita por Santos-Silva *et al.* (2002)]

## 2.5 Análise estatística

Todos os resultados obtidos a partir do doseamento são expressos como média  $\pm$  desvio padrão.

De modo a determinar se existiam diferenças entre os tecidos, sexo e os diferentes parâmetros analisados foi efectuado o teste “*T* de Student”. No sentido de verificar se existia diferenças entre espécies no teor dos diversos parâmetros analisados utilizou-se a análise de variâncias (“One-way ANOVA”), usando o teste “Tukey”. Os pressupostos destas aplicações, normalidade e homogeneidade de variâncias, foram efectuados, utilizando, respectivamente para o “*T* de Student” e “Tukey”, os testes de “Shapiro-wilk’s Test” e o “Levene’s F-test”. Os dados onde não se verificaram estes pressupostos foram utilizados testes não paramétricos, respectivamente o “Mann-Whitney’s *U*-test” e o “Kruskal-Wallis” em conjunto com o Método de comparações múltiplas.

Foi utilizado o coeficiente de “Pearson” para correlacionar os resultados obtidos. O nível de significância ( $\alpha$ ), para todos os testes estáticos efectuados, foi de 0,05. Para a realização dos referidos testes utilizou-se o “software” STATISTICA 7 (Stat-sof, Inc. USA, 2004).



### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Dados biométricos

Os dados biométricos referentes às espécies estudadas, peixe-espada-preto (PEP), peixe-espada-branco (PEB), tamboril (TA), tamboril-sovaco-preto (TSP), areeiro (ARE), areeiro-de-quatro-manchas (AQM), pescada-europeia (PE) e raias (RA), encontram-se na Tabela 6 e os resultados individuais exibem-se no Anexo III (Quadro I).

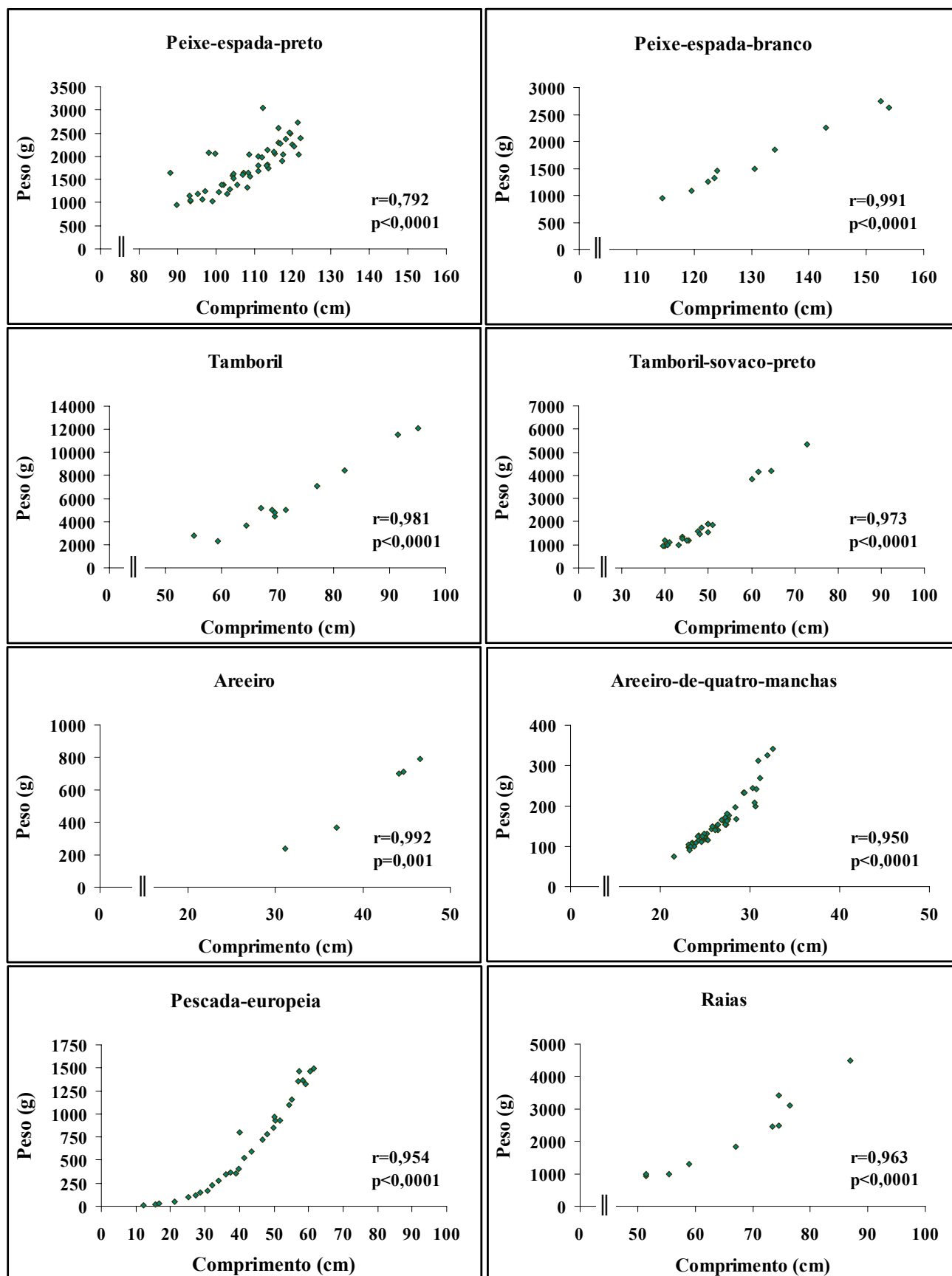
O comprimento, peso e sexo, relativos aos exemplares das oito espécies estudadas, capturadas ao longo da costa portuguesa, foram registados em 190 exemplares.

**Tabela 6** – Comprimento (cm), peso (g) e sexo das espécies estudadas.

Espécie <sup>#</sup>	n	Comprimento (cm)	Peso (g)	Sexo	Família
<b>PEP</b>	33	90 - 122	940 - 3050	F	Trichiuridae
	17	88 - 120	1038 - 2278	M	
<b>PEB</b>	3	143 - 154	2250 - 2740	F	Trichiuridae
	2	124 - 134	1460 - 1850	M	
	5	115 - 131	950 - 1490	Ind.	
<b>TA</b>	6	67 - 95	4482 - 12100	F	Lophiidae
	6	55 - 77	2286 - 7050	M	
<b>TSP</b>	5	41 - 73	1100 - 5324	F	Lophiidae
	16	40 - 51	950 - 1900	M	
<b>ARE</b>	5	31 - 47	236 - 788	M	Scophthalmidae
<b>AQM</b>	30	22 - 33	74 - 341	F	Scophthalmidae
	21	23 - 31	90 - 208	M	
<b>PE</b>	13	27 - 57	119 - 1465 <sup>(1)</sup>	F	Merlucciidae
	5	25 - 38	97 - 366	M	
	13	12 - 62	10 - 1496	Ind.	
<b>RA</b>	25	52 - 87	925 - 4500	F	Rajidae
	28	52 - 75	975 - 3410	M	

#: PEP - peixe-espada-preto; PEB - peixe-espada-branco; TA - tamboril; TSP - tamboril-sovaco-preto; ARE - areeiro; AQM - areeiro-de-quatro-manchas; PE - pescada-europeia; RA - raias; n - número de exemplares; valor mínimo-máximo; Ind. - sexo indeterminado; (1) - peixe esviscerado

A relação entre o comprimento e o peso dos exemplares das diferentes espécies estudadas encontram-se na Figura 15. Os coeficientes de correlação verificados entre estes dois parâmetros foram, para todas as espécies, significativos ( $p \leq 0,001$ ) e positivos.



**Figura 15** – Relação entre o comprimento e o peso de cada espécie estudada.

Atendendo aos comprimentos registados e às relações entre o comprimento e a idade das espécies estudadas, publicadas por diversos autores, podemos sugerir que os exemplares de peixe-espada-preto tinham idades compreendidas entre 4 e 10 anos (Morales-Nin *et al.*, 2002), os de peixe-espada-branco entre 2 e 6/7 anos (Demestre *et al.*, 1993; Tuset *et al.*, 2006), os de tamboril entre 5/6 e 16 anos (Landa *et al.*, 2001), os de tamboril-sovaco-preto entre 6 e 15 anos (Landa *et al.*, 2001), os de areeiro mais de 6 anos (Landa *et al.*, 1996; Landa & Piñeiro, 2000), os de areeiro-de-quatro-manchas mais de 4 anos (Landa *et al.*, 2002), os de pescada-europeia entre 0/1 ano e 8/9 anos (Godinho, *et al.*, 2001; Piñeiro & Saínza, 2003) e as raias tinham mais de 2 anos (Gallagher *et al.*, 2005).

À excepção de alguns dos exemplares de pescada-europeia, todos os peixes estudados eram adultos e seus os tamanhos encontravam-se dentro da gama de comprimentos considerada comercializável.

Contrariamente ao verificado no peixe-espada-preto, pescada-europeia e raias, o peixe-espada-branco, tamboril-sovaco-preto e areeiro-de-quatro-manchas revelaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre o sexo e o comprimento e peso. O tamboril apenas apresentou diferenças significativas entre o sexo e o peso dos exemplares. Pelo facto da amostra de areeiros ser constituída apenas por machos não foi possível determinar qualquer relação.

Em todos os casos onde ocorreu diferença estatística, os exemplares fêmeas apresentavam pesos e comprimentos maiores do que os verificados nos machos. De acordo com diversos autores, os machos do peixe-espada-preto (Morales-Nin & Sena-Carvalho, 1996), peixe-espada-branco (Demestre *et al.*, 1993), tamboril (Landa *et al.*, 2001; Duarte *et al.*, 2001), areeiro (Landa *et al.*, 1996; Landa *et al.* 2002) e pescada (Piñeiro & Saínza, 2003) são menores que as fêmeas em idades idênticas. Segundo estes autores este facto pode ser explicado, entre outras causas, por diferenças no metabolismo entre os dois sexos, provocadas principalmente por factores reprodutivos.

Apesar de no grupo das raias não se ter verificado diferenças significativas entre o sexo e os dados biométricos não é possível comparar com outros dados, visto que este grupo inclui três espécies diferentes (raia-lenga, raia-pontuada e a raia-zimbreira). No entanto, num estudo efectuado por Gallagher *et al.* (2005), onde foram estudadas as raia-lenga e raia-pontuada, apenas esta última espécie apresentava diferenças entre sexos na relação comprimento/idade atingida.

### 3.2 Caracterização nutricional das espécies estudadas

#### 3.2.1 Composição química aproximada

A composição química aproximada (humidade, gordura, proteína e cinza), no tecido muscular das espécies estudadas, encontra-se descrita na Tabela 7 e os valores individuais estão exibidos no Anexo III (Quadro II). Nesta tabela apresenta-se igualmente o valor energético, calculado com base na percentagem em gordura e proteína e considerado que a de hidratos de carbono é irrelevante, e na Tabela 8 apresenta-se os resultados dos testes estatísticos efectuados para comparação entre espécies.

**Tabela 7** – Composição química aproximada e valor energético das espécies estudadas.

Espécie <sup>#</sup>	n	Humidade (%)	Gordura (%)	Proteína (%)	Cinza (%)	Valor energético (kcal/100 g)
PEP	23	79,9±1,2 (76,3 – 81,4)	1,2±1,0 (0,3 - 4,1)	18,4±1,2 (16,9 – 21,2)	1,2±0,1 (1,0 - 1,3)	85±11 (73 - 116)
PEB	10	80,6±1,5 (78,8 – 83,3)	0,4±0,5 (0,04 - 1,7)	17,5±1,5 (14,7 – 19,3)	1,3±0,1 (1,2 - 1,4)	74±6 (60 - 83)
TA	8	81,4±1,7 (78,6 – 83,6)	0,3±0,1 (0,2 - 0,4)	17,4±1,0 (16,0 – 18,7)	1,2±0,1 (1,1 - 1,3)	72±4 (66 - 77)
TSP	11	80,4±1,2 (78,7 – 82,9)	0,2±0,1 (0,2 - 0,3)	17,9±1,1 (16,2 – 20,0)	1,2±0,03 (1,2 - 1,3)	74±5 (66 - 83)
ARE	5	78,1±1,2 (76,6 – 79,8)	1,6±0,4 (0,8 - 1,9)	19,1±1,2 (18,1 – 21,0)	1,3±0,05 (1,2 - 1,3)	90±7 (80 - 99)
AQM	7	76,2±2,0 (74,6 – 79,1)	0,7±0,2 (0,5 - 1,0)	21,0±2,5 (17,1 – 23,8)	1,4±0,1 (1,3 - 1,5)	90±10 (77 - 102)
PE	7	78,9±1,5 (77,3 – 80,6)	0,7±0,3 (0,3 - 1,2)	19,3±0,9 (18,0 – 20,4)	1,3±0,1 (1,2 - 1,5)	83±6 (76 - 91)
RA	10	77,1±1,1 (75,4 – 78,7)	0,2±0,3 (0,02 - 0,8)	20,2±1,0 (18,7 – 21,8)	1,4±0,1 (1,3 - 1,5)	83±5 (76 - 93)

<sup>#</sup>: idêntico à Tabela 6; n - número de exemplares; média±desvio padrão; máximo-minimo

**Tabela 8** – Resultado dos testes estatísticos efectuados para a comparação entre espécies (humidade, gordura, proteína e cinza).

Humidade (Teste Tukey)								Gordura (Teste Kruskal-Wallis)							
	PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE		PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE
PEB <sup>#</sup>	n.s.							PEB	*						
TA	*	n.s.						TA	n.s.	n.s.					
TSP	n.s.	n.s.	n.s.					TSP	***	n.s.	n.s.				
ARE	n.s.	*	**	n.s.				ARE	n.s.	*	n.s.	**			
AQM	***	***	***	***	n.s.			AQM	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		
PE	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	*		PE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
RA	***	***	***	***	n.s.	n.s.	n.s.	RA	***	n.s.	n.s.	n.s.	***	*	n.s.
Proteína (Teste Kruskal-Wallis)								Cinza (Teste Kruskal-Wallis)							
	PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE		PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE
PEB	n.s.							PEB	n.s.						
TA	n.s.	n.s.						TA	n.s.	n.s.					
TSP	n.s.	n.s.	n.s.					TSP	n.s.	n.s.	n.s.				
ARE	n.s.	n.s.	*	n.s.				ARE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.			
AQM	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.			AQM	***	n.s.	**	n.s.	n.s.		
PE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		PE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
RA	*	*	**	*	n.s.	n.s.	n.s.	RA	***	n.s.	***	*	n.s.	n.s.	n.s.

#: idêntico à Tabela 6; n.s.- não significativo; \* p< 0,05; \*\* p<0,01; \*\*\*p<0,001

A humidade, nas oito espécies estudadas, variou entre 74,6 e 83,6 %, respectivamente no areeiro-de-quatro-manchas e tamboril, valores usuais para as espécies magras (Huss, 1995; Belitz *et al.*, 2004).

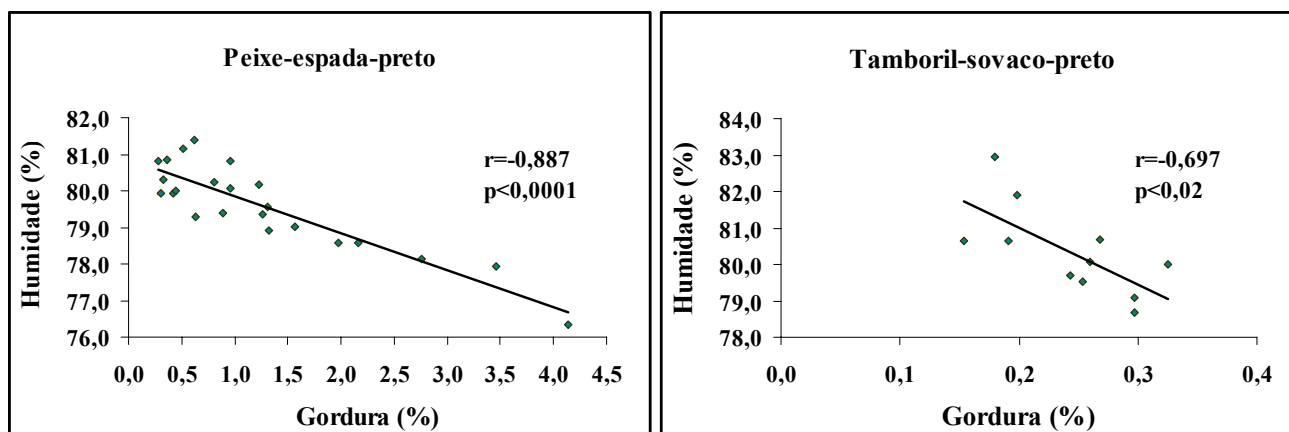
No que diz respeito a este constituinte, não foram encontradas diferenças nos exemplares das várias espécies pertencentes à mesma família (peixe-espada, tamboris e areeiros). Foram, no entanto, encontradas diferenças estatísticas entre os exemplares de famílias diferentes como se pode observar na Tabela 8. Estas diferenças estão certamente relacionadas com factores endógenos e factores ambientais (Huss, 1995).

A percentagem de gordura oscilou entre um mínimo de 0,02 e um máximo de 4,1 %. Tal como a Tabela 8 indica, foi registada uma diferença significativa para o teor de gordura entre as duas espécies de peixe-espada, ao passo que entre tamboris e areeiros não se verificou diferenças entre espécies.

Ao nível individual, com a excepção das espécies de tamboril, foram verificadas variações na percentagem de gordura dos vários exemplares analisados. Estas variações foram de 0,3 a 4,1 % no peixe-espada-preto, 0,04 a 1,7 % no peixe-espada-branco, 0,8 a 1,9 % no areeiro, 0,5 a 1,0 % no areeiro-de-quatro-manchas, 0,3 a 1,2 % na pescada-europeia e de 0,02 a 0,8 % nas raias.

Atendendo a estes resultados e à classificação proposta por Kołakowska *et al.* (2003), as espécies estudadas podem ser consideradas magras (apresentam teor em gordura <2 %) com excepção do peixe-espada-preto que é considerado uma espécie de baixo teor em gordura (apresenta um teor em gordura que pode atingir os 4 %).

Em muitas espécies, o teor em gordura está inversamente relacionado com o teor em água (Huss, 1995; Cahu *et al.*, 2004; Nunes *et al.*, 2006). Neste estudo, apenas foram encontradas correlações significativas, entre o teor em gordura e humidade, nas espécies de peixe-espada-preto ( $r=-0,887$ ) e tamboril-sovaco-preto ( $r=-0,697$ ), tendo esta sido negativa (Figura 16).

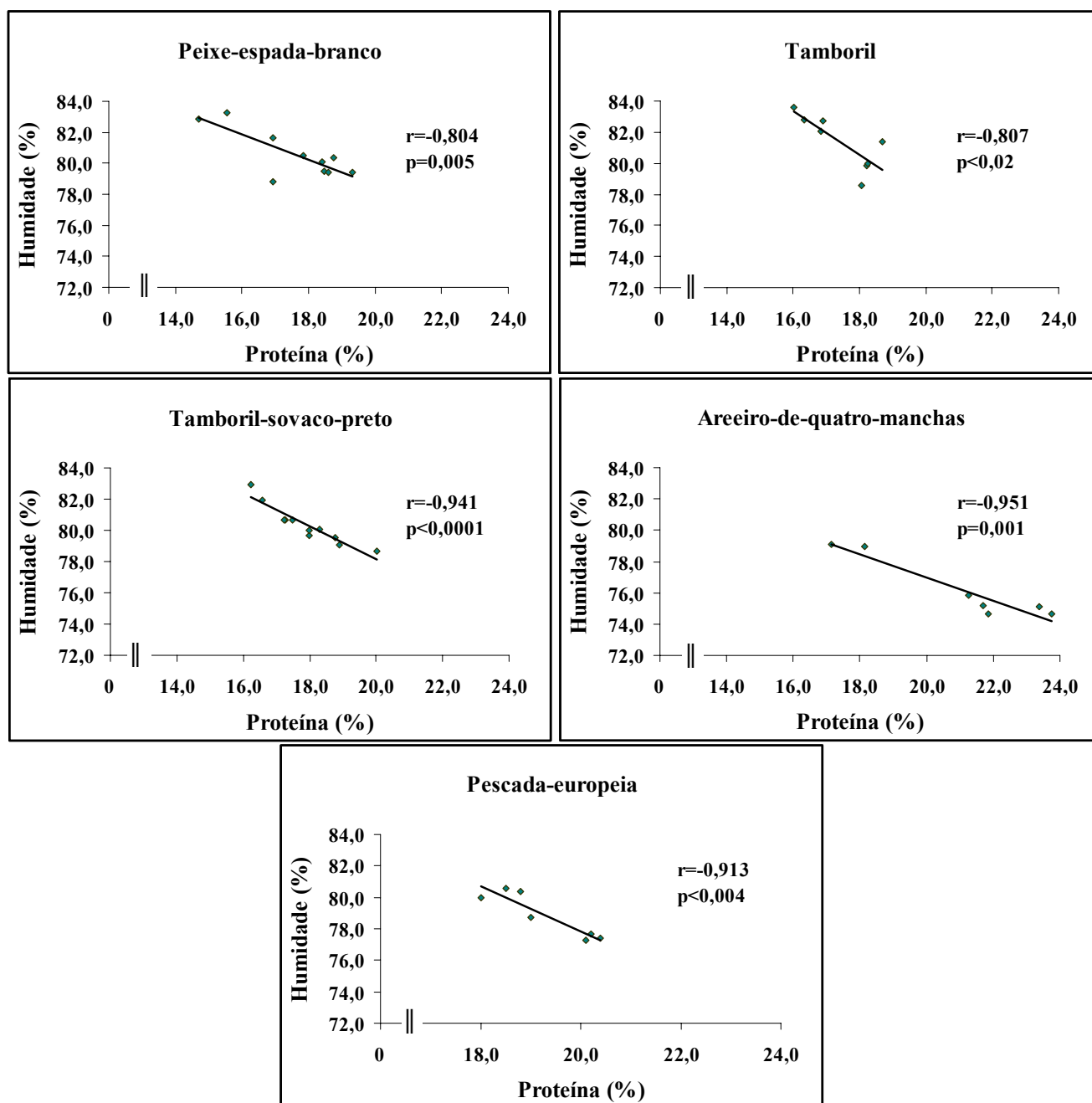


**Figura 16** – Correlações significativas entre os teores de gordura e de humidade (%) do músculo do peixe-espada-preto e tamboril-sovaco-preto.

Nas espécies estudadas o teor médio proteico oscilou em média entre  $17,4\pm1,0$  % (tamboril) e  $21,0\pm2,5$  % (areeiro-de-quatro-manchas).

Usualmente a fracção proteica do peixe é relativamente constante na maioria das espécies (Haard, 1995; Huss, 1995; Senso *et al.* 2007). No entanto, várias espécies aquando da maturação das gónadas e/ou em longos períodos de inanição, utilizam além da gordura, as proteínas como fonte de energia, podendo, desta forma, haver uma redução destes nutrientes (Huss, 1995; Haard, 1995).

De um modo geral, tal como no teor em gordura, o decréscimo do teor de proteína é acompanhado pelo aumento do teor em água no músculo (Haard, 1995). Esta correlação negativa foi significativa nos exemplares de peixe-espada-branco ( $r=-0,804$ ), tamboril ( $r=-0,807$ ), tamboril-sovaco-preto ( $r=-0,941$ ), areeiro-de-quatro-manchas ( $r=-0,951$ ) e pescada-europeia ( $r=-0,913$ ) (Figura 17). Drazen (2007) verificou também, em peixes demersais, uma correlação negativa entre estes constituintes.



**Figura 17** – Correlações significativas entre o teor de proteína (%) e humidade (%) do músculo do peixe-espada-branco, tamboril, tamboril-sovaco-preto, areeiro-de-quatro-manchas e pescada-europeia.

No presente trabalho, o teor médio em cinza não oscilou muito quer entre espécies, quer dentro da mesma espécie. Assim, a gama de valores médios balançou entre 1,2 %, observado no peixe-espada-preto e espécies de tamboril, e 1,4 %, no areeiro-de-quatro-manchas e raias.

De acordo com Lall (1995) o teor em cinza nos peixes pode variar entre 0,5 e 1,8 %, no entanto, Huss (1995) refere que as variações normais deste teor nos peixes se situam entre 1,2 e 1,5 %, valores estes que corroboram os obtidos.

Os resultados verificados para o peixe-espada-preto, peixe-espada-branco, tamboril, pescada-europeia e raias foram comparados com os valores publicados pelo INSA (2006) (Tabela 9). De um modo geral, a gama de valores obtida no presente trabalho integra os valores descritos pelo INSA. No entanto, esta comparação revela algumas diferenças sobretudo ao nível da proteína. A maior diferença foi encontrada para o teor de proteína nas raias. O valor descrito pelo INSA (2006) é de 14,1 % enquanto o do presente trabalho é de  $20 \pm 1$  %. Estudos realizados em raia-lenga (*Raja clavata*) por Bandarra *et al.* (2004) e Turan *et al.* (2007) revelaram, não só teores de proteína idênticos aos do presente estudo (20,1 e 20,02 %, respectivamente), como também de humidade (77,6 e 77,45 %, respectivamente), gordura (0,2 e 0,51 %, respectivamente) e cinza (1,9 e 1,38 %, respectivamente). De igual modo, num trabalho efectuado noutras espécies de profundidade, teleósteos e elasmobrânquios, por Økland *et al.* (2005), os teores determinados são muito idênticos aos verificados no presente estudo.

**Tabela 9** – Composição química de algumas espécies de peixe (INSA, 2006).

<b>Espécie<sup>#</sup></b>	<b>Humidade %</b>	<b>Gordura %</b>	<b>Proteína %</b>	<b>Cinza %</b>	<b>V. Energético (kcal/100 g)</b>
<b>PEP</b>	79,7	2,8	15,7	1,2	88
<b>PEB</b>	74,4	4,0	20,3	1,3	117
<b>TA</b>	80,4	0,2	17,9	1,1	73
<b>PE</b>	81,1	0,8	17,0	1,1	75
<b>RA</b>	77,6	0,2	14,1	1,9	58

<sup>#</sup>: idêntico à Tabela 6

Os valores encontrados reflectem não só as variações individuais mas também as diferenças entre espécies e famílias. Como é sabido, a composição química da fracção edível do pescado varia de espécie para espécie e dentro da mesma espécie, com factores extrínsecos e intrínsecos (Huss, 1995; Simopoulos, 1997). Assim, as variações encontradas neste trabalho corroboram essa observação. É também importante realçar que as espécies utilizadas foram, de um modo geral, capturadas em diferentes épocas do ano, em diferentes anos, bem como em diferentes zonas geográficas o que, como já referido, também contribui para essa variação.

A título de exemplo, num estudo efectuado em pescada-europeia por Karakoltsidis *et al.* (1995), capturada em diferentes épocas do ano no Mediterrâneo, revelou variações entre a sua composição química, tendo a gordura, por exemplo,



apresentado um valor mais baixo na Primavera ( $0,4\pm0,2$  %) e o mais alto durante o Inverno ( $2,0\pm0,3$  %).

Entre os componentes água (W), lípidos (L) e proteína bruta (P), de acordo com Sikorski *et al.* (1990), verifica-se em muitas espécies a relação:

$$W+L=98,8-1,01P$$

Constata-se que, em regra, esta relação também se aplica às espécies estudadas.

O peixe não é uma importante fonte de calorias, que são maioritariamente obtidas pelo fornecimento de hidratos de carbono na alimentação (Valdimarsson & James, 2001) e gordura. Atendendo aos resultados podemos verificar que o valor energético médio das espécies estudadas se situa entre 72 e 90 kcal/100 g de produto.

Estes valores são muitos próximos dos teores referidos por Huss (1995), Bandarrra *et al.* 2004, INSA (2006), Nunes *et al.* (2006), Darzen (2007) e devem-se sobretudo, tal como o verificado por Nunes *et al.* (2006), à contribuição do teor em proteínas. A maior gama de variação, foi registado no peixe-espada-preto, como era de esperar, dada a maior variação no teor de gordura.

Todavia, as oito espécies estudadas apresentam como padrão o facto de serem magras ou pouco gordas, ricas em proteína e com baixo valor energético, características que as tornam interessantes sob o ponto de vista nutricional.

Foram ainda estabelecidas correlações entre os dados biométricos e os principais constituintes (humidade, gordura, proteína e cinza) das espécies analisadas, no sentido de relacionar o seu desenvolvimento corporal com uma possível variação na parte edível, não tendo sido encontradas correlações significativas entre essas variáveis à excepção do peixe-espada-branco. Este revelou uma correlação negativa entre o teor em cinza e o comprimento ( $r=-0,843$ ;  $p=0,002$ ) e o peso ( $r=-0,848$ ;  $p=0,002$ ) e uma correlação positiva entre o teor em proteína e o peso ( $r=0,641$ ;  $p=0,046$ ).

### 3.2.2 Ácidos Gordos

O perfil dos ácidos gordos das espécies estudadas neste trabalho encontra-se na Tabela 10 e no Anexo III (Quadro III).

**Tabela 10** – Perfil dos principais ácidos gordos (%) das espécies estudadas.

Ácidos Gordos (%)	PEP <sup>#</sup> (n=10)	PEB (n=10)	TA (n=6)	TSP (n=6)	ARE (n=5)	AQM (n=5)	PE (n=7)	RA (n=10)
<b>14:0</b>	1,5±0,4	1,8±1,2	1,0±0,3	1,0±0,3	3,0±0,9	2,5±0,6	1,9±0,3	0,5±0,1
<b>16:0</b>	13,5±2,3	17,5±0,8	20,1±1,6	19,0±1,8	20,1±0,7	20,0±0,8	23,7±3,4	23,0±1,6
<b>18:0</b>	4,7±1,0	8,5±1,6	8,2±0,5	9,5±0,8	3,7±0,3	4,9±0,5	6,8±1,3	7,7±1,0
<b>Outros*</b>	0,7±0,1	1,2±0,4	0,7±0,2	1,0±0,2	0,8±0,1	1,4±0,2	1,2±0,1	1,5±0,3
<b>Σ Saturados</b>	20,5±3,2	29,0±0,8	30,0±1,9	30,5±2,4	27,6±0,8	28,8±0,6	33,6±4,7	32,8±1,9
<b>16:1</b>	2,7±0,5	2,0±1,2	2,5±0,2	2,5±0,4	6,8±1,2	6,5±1,9	3,6±0,6	1,7±0,4
<b>18:1n-9</b>	23,3±3,4	15,0±3,8	12,8±1,8	12,9±1,7	18,7±2,6	13,4±3,0	18,8±2,7	8,6±1,6
<b>20:1</b>	10,9±3,9	2,3±0,9	1,5±0,6	0,8±0,4	5,3±0,9	1,7±0,2	1,9±0,5	0,7±0,2
<b>22:1</b>	9,7±4,9	2,1±1,5	0,9±0,6	0,5±0,4	3,6±1,6	0,5±0,1	1,3±0,8	0,5±0,3
<b>Outros**</b>	5,3±0,4	2,7±0,5	4,5±0,4	3,9±0,7	4,7±0,4	5,5±0,6	4,2±0,4	4,4±0,6
<b>Σ Monoinsaturados</b>	52,0±9,6	24,1±6,1	22,2±2,2	20,5±1,4	39,2±3,4	27,7±5,4	29,8±3,6	16,0±2,1
<b>18:2n-6</b>	0,7±0,1	1,1±0,2	1,0±0,2	0,9±0,1	0,8±0,1	0,8±0,1	1,1±0,1	1,0±0,6
<b>18:4n-3</b>	0,1±0,1	0,3±0,3	0,2±0,1	0,1±0,05	0,5±0,1	0,2±0,1	0,3±0,1	0,1±0,1
<b>20:4n-6</b>	1,8±0,8	2,8±1,0	3,8±0,6	5,5±1,3	1,4±0,3	4,2±1,1	1,8±0,4	4,2±1,3
<b>20:4n-3</b>	0,5±0,1	0,6±0,1	0,3±0,04	0,2±0,1	0,4±0,04	0,3±0,1	0,3±0,1	0,3±0,2
<b>20:5n-3</b>	2,2±0,5	5,3±1,0	4,9±0,9	5,0±1,3	4,3±0,5	6,7±1,1	6,3±1,7	4,5±1,2
<b>22:5n-3</b>	1,0±0,3	1,7±0,2	1,6±0,3	1,6±0,2	2,3±0,2	3,0±0,04	0,8±0,3	3,1±0,5
<b>22:6n-3</b>	13,3±5,6	26,4±6,0	27,6±2,0	26,6±2,3	16,7±2,5	18,3±3,9	19,8±5,2	30,0±2,7
<b>Outros***</b>	3,5±0,3	3,3±0,8	3,2±0,5	3,9±0,5	2,6±0,2	3,5±0,3	1,6±0,3	3,8±0,3
<b>Σ Polinsaturados</b>	23,1±6,4	41,6±6,7	42,5±2,7	43,8±2,6	28,9±2,7	37,1±5,4	32,0±7,6	47,0±1,5
<b>Σ n-3</b>	18,0±6,0	36,2±6,0	35,4±2,4	34,7±3,1	25,1±2,4	29,7±4,5	28,4±7,0	39,4±2,1
<b>Σ n-6</b>	5,1±0,8	5,5±1,1	7,0±0,8	9,1±1,7	3,7±0,3	7,4±1,4	3,7±0,6	7,6±1,9
<b>Não identificados</b>	4,4±1,3	5,3±0,8	5,4±0,9	5,1±1,0	4,3±0,8	6,6±0,5	4,6±1,6	4,3±1,1

#: idêntico à Tabela 6; n - número de exemplares; média±desvio padrão

\* 15:0, 17:0, 20:0, 22:0 \*\* 17:1, 18:1n-7, 24:1n-9 \*\*\* 16:3n-3, 16:4n-3, 18:3n-3, 20:2n-6, 22:2n-6, 22:4n-6, 22:5n-6

Da análise da Tabela 10 verifica-se que a maioria das espécies estudadas apresentou percentagens médias mais elevadas de ácidos gordos polinsaturados do que as dos saturados e monoinsaturados. No entanto, foram verificadas excepções como é o caso do peixe-espada-preto, areeiro e pescada-europeia.

Analisando globalmente o somatório dos ácidos gordos saturados das espécies estudadas verifica-se que, através dos dados da Tabela 11, a percentagem destes compostos não apresenta muitas variações entre espécies. Assim, apenas o peixe-espada-preto apresenta um teor inferior às duas espécies de tamboril, pescada-europeia e raias. De salientar, igualmente, que nas raias a percentagem destes ácidos gordos é superior à do areeiro.

**Tabela 11** – Resultado dos testes estatísticos efectuados para a comparação entre espécies (somatório dos ácidos gordos saturados, ácido gordo 16:0 e 18:0).

A.G. Saturados (Teste Kruskal-Wallis)							
	PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE
PEB <sup>#</sup>	n.s						
TA	*	n.s.					
TSP	*	n.s.	n.s.				
ARE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.			
AQM	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		
PE	***	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
RA	***	n.s.	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.

16:0 (Teste Kruskal-Wallis)								18:0 (Teste Kruskal-Wallis)							
	PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE		PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE
PEB	ns							PEB	**						
TA	*	n.s.						TA	*	n.s.					
TSP	n.s	n.s.	n.s.					TSP	***	n.s.	n.s.				
ARE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.				ARE	n.s.	**	*	***			
AQM	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.			AQM	n.s.	n.s.	n.s.	**	n.s.		
PE	***	***	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		PE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	
RA	***	***	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	RA	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

#: idêntico à Tabela 6; n.s.- não significativo; \* p< 0,05; \*\* p<0,01; \*\*\*p<0,001

Em todas as espécies, o ácido palmítico (16:0) é o mais abundante seguido do ácido esteárico (18:0). Os restantes encontram-se, em todas as espécies, em pequenas percentagens. O elevado teor do 16:0, comparativamente aos restantes, pode dever-se ao facto, deste ser uma potencial fonte de energia metabólica, por exemplo, durante as fases de crescimento do peixe e de desenvolvimento das ovas nas fêmeas (Huynh *et al.*, 2007). Segundo Nunes *et al.* (2003), este ácido gordo apresenta valores constantes durante o ciclo de vida da maioria das espécies e é considerado um metabolito chave na síntese de outros ácidos gordos.

De acordo com os dados da tabela 11, constata-se que as duas espécies de peixe-espada apresentam uma menor percentagem de 16:0 comparativamente à pescada-

européia e raias e também que o peixe-espada-preto apresenta um teor inferior ao do tamboril.

No que respeita aos ácidos monoinsaturados (Tabela 10), observam-se percentagens totais entre 16 e 52 %, respectivamente nas raias e peixe-espada-preto. Todavia, de acordo com os testes indicados na Tabela 12 conclui-se que, tal como aconteceu com os ácidos gordos saturados, a percentagem dos monoinsaturados não apresenta grandes variações entre espécies. Verifica-se, contudo, que, a percentagem encontrada para o peixe-espada-preto é significativamente superior às encontradas no peixe-espada-branco, espécies de tamboril e raias. De salientar, igualmente, que as raias apresentaram uma percentagem inferior às do areeiro e pescada-europeia.

Analisando a Tabela 10, constata-se que o ácido monoinsaturado predominante em todas as espécies analisadas é o ácido oleico (18:1n-9) seguido, em regra, do 16:1.

**Tabela 12** – Resultado dos testes estatísticos efectuados para a comparação entre espécies (somatório dos ácidos gordos monoinsaturados, ácido gordo 18:1n-9, 20:1 e 22:1).

A.G. Monoinsaturados (Teste Kruskal-Wallis)								18:1n-9 (Teste Kruskal-Wallis)							
PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE		PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE	
PEB <sup>#</sup>	**							PEB	n.s.						
TA	*	n.s.						TA	*	n.s.					
TSP	**	n.s.	n.s.					TSP	*	n.s.	n.s.				
ARE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.				ARE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.			
AQM	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.			AQM	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		
PE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		PE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
RA	***	n.s.	n.s.	n.s.	***	n.s.	**	RA	***	*	n.s.	n.s.	**	n.s.	***
20:1 (Teste Kruskal-Wallis)								22:1 (Teste Kruskal-Wallis)							
PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE		PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE	
PEB	n.s.							PEB	n.s.						
TA	*	n.s.						TA	*	n.s.					
TSP	***	n.s.	n.s.					TSP	***	n.s.	n.s.				
ARE	n.s.	n.s.	n.s.	*				ARE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.			
AQM	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.			AQM	**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		
PE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		PE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
RA	***	*	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.	RA	***	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.

#: idêntico à Tabela 6; n.s.- não significativo; \* p< 0,05; \*\* p<0,01;\*\*\* p<0,001

A análise dos dados da Tabela 12 permite concluir que a percentagem de 18:1n-9 no peixe-espada-preto é estatisticamente superior à encontrada nas duas espécies de tamboril e raias. De notar ainda, que as raias apresentaram uma percentagem inferior a quatro das espécies analisadas (peixe-espada-preto, peixe-espada-branco, areeiro e pescada-europeia).

Remme *et al.* (2006) referem que os organismos que se encontram a grandes profundidades são ricos em ácidos gordos monoinsaturados sobretudo do tipo 18:1, comparativamente com outros que habitam zonas mais superficiais ou em águas mais

quentes, sugerindo que este facto seja uma resposta adaptativa às altas pressões das grandes profundidades.

Nas espécies estudadas, observa-se também a predominância do 18:1, todavia no caso do peixe-espada-preto é de destacar os níveis elevados de 20:1 e 22:1, facto que distingue esta espécie das restantes. Estes ácidos gordos, abundantes nos triacilgliceróis, são de origem exógena e segundo Tocher (2003) provém do zooplâncton, principalmente de copépodes calanoides e eufasiáceos, que são a principal fonte alimentar de inúmeras espécies marinhas de peixe.

Os nossos resultados corroboram estudos feitos por outros autores. A predominância do 16:0 e 18:1, respectivamente para os ácidos gordos saturados e monoinsaturados, foi também constatada noutros estudos em tamboril, pescada-europeia, peixe-espada-branco, peixe-espada-preto (Bandarra *et al.*, 2002; Nunes *et al.*, 2003), raia-lenga (Nunes *et al.*, 2003; Turan *et al.*, 2007) bem como em diversas outras espécies de peixes (Bandarra *et al.*, 2002; Nunes *et al.*, 2003; Økland *et al.*, 2005; Huynh *et al.*, 2007; Mnari *et al.*, 2007; Senso *et al.*, 2007; Zlatanov *et al.*, 2007).

Relativamente aos polinsaturados, observam-se uma gama média de variação entre os  $23,1 \pm 6,4$  % no peixe-espada-preto e  $47,0 \pm 1,5$  % nas raias.

Através da análise estatística (Tabela 13) pode verificar-se que a percentagem de polinsaturados é mais elevada nas raias quando comparada com a do peixe-espada-preto, areeiro e pescada-europeia e no tamboril quando comparado com o peixe-espada-preto.

Os ácidos gordos polinsaturados predominantes nos peixes estudados foram principalmente do tipo n-3 e constituíram cerca de 80 % do total de polinsaturados.

De facto, os lípidos do peixe são ricos em ácidos gordos polinsaturados de cadeia longa que pertencem, principalmente, à família n-3. O peixe acumula estes compostos, principalmente EPA e DHA, através da cadeia trófica sendo as algas e o fitoplâncton os produtores primários (Nunes *et al.*, 2003; Turan *et al.*, 2007). A maior razão para a sua importância nos organismos marinhos prende-se com o facto de estes compostos serem fluidos a baixas temperaturas (Turan *et al.*, 2007).

**Tabela 13** – Resultado dos testes estatísticos efectuados para a comparação entre espécies (somatório dos ácidos gordos polinsaturados, ácido gordo 22:6n-3, 20:5n-3 e 20:4n-6).

A.G. Polinsaturados (Teste Kruskal-Wallis)								22:6n-3 (Teste Kruskal-Wallis)							
	PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE		PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE
PEB <sup>#</sup>	**							PEB	**						
TA	n.s.	n.s.						TA	*	n.s.					
TSP	**	n.s.	n.s.					TSP	*	n.s.	n.s.				
ARE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.				ARE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.			
AQM	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.			AQM	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		
PE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		PE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
RA	***	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	***	RA	***	n.s.	n.s.	n.s.	**	*	*
20:5n-3 (Teste Kruskal-Wallis)								20:4n-6 (Teste Tukey)							
	PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE		PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE
PEB	***							PEB	n.s.						
TA	***	n.s.						TA	n.s.	n.s.					
TSP	***	n.s.	n.s.					TSP	**	n.s.	n.s.				
ARE	*	n.s.	n.s.	n.s.				ARE	n.s.	n.s.	n.s.	***			
AQM	***	n.s.	n.s.	n.s.	*			AQM	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*		
PE	***	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.		PE	n.s.	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.	
RA	***	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	*	RA	*	n.s.	n.s.	n.s.	**	n.s.	*

#: idêntico à Tabela 6; n.s.- não significativo; \* p< 0,05; \*\* p<0,01; \*\*\*p<0,001

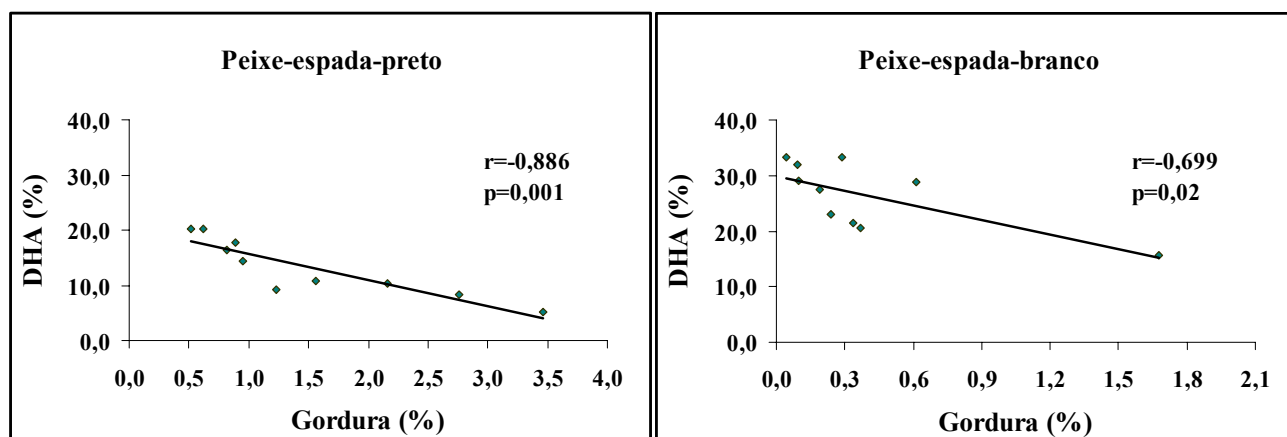
O ácido gordo polinsaturado mais abundante em todas as espécies estudadas foi o DHA (22:6n-3), tendo o peixe-espada-preto apresentado a percentagem mais baixa ( $13,3 \pm 5,6$  %), que, todavia não diferiu estatisticamente das encontradas nas duas espécies de areeiro e pescada-europeia. Por outro lado, as raias apresentaram um valor superior ( $30,0 \pm 2,7$  %) quando comparado com as duas espécies de areeiros e pescada-europeia.

O EPA (20:5n-3) foi o segundo ácido do tipo n-3 mais abundante, tendo o peixe-espada-preto apresentado uma percentagem inferior a todas as outras espécies. É ainda interessante referir que para este ácido gordo existe variação entre espécies da mesma família (entre as espécies de peixe-espada e areeiros).

A abundância do DHA em relação ao EPA tem sido referida em diversas espécies de peixe, incluindo algumas das estudadas, por diversos autores (Bandarra *et al.*, 2002; Økland *et al.*, 2005; Nunes *et al.*, 2006; Huynh *et al.*, 2007; Jensen *et al.*, 2007; Mnari *et al.*, 2007; Turan *et al.*, 2007).

As percentagens superiores de DHA comparativamente com a de EPA podem ser explicadas pela dieta alimentar, na medida em que, como já foi referido, existe uma estreita relação entre esta e a composição dos lípidos no peixe (Cahu *et al.*, 2004; Mnari *et al.*, 2007). Jensen *et al.* (2007) verificaram, em arenques, uma variação sazonal de EPA mas não de DHA, estes autores relacionaram o aumento de EPA no músculo do peixe em determinada época do ano (mês de Maio) com o aumento deste ácido gordo nos copépodes calanoides dos quais o arenque se alimenta.

Verificou-se, em algumas espécies estudadas, uma correlação negativa entre o teor de DHA e o teor em gordura (Figura 18). Essa correlação foi significativa no peixe-espada-preto ( $r=-0,886$ ;  $p=0,001$ ) e no peixe-espada-branco ( $r=-0,699$ ;  $p=0,02$ ) e poderá dever-se ao facto deste ácido gordo ser um dos principais componentes dos lípidos estruturais da membrana, não apresentando por isso grandes variações ao longo do ano (Ackman, 1995; Huss, 1995; Huynh *et al.*, 2007).



**Figura 18** – Correlações significativas entre o teor de gordura (%) e o do ácido gordo DHA (%) nas espécies de peixe-espada.

No presente estudo verificou-se também que, de um modo geral, os exemplares que apresentaram percentagens mais elevadas de DHA exibiam concomitantemente percentagens inferiores de 18:1. Este facto foi também verificado por Huynh *et al.* (2007) e poderá ser explicado, segundo estes autores, pelo facto de os lípidos estruturais mais insaturados presentes nas membranas (como o DHA) serem relativamente preservados comparativamente com os monoinsaturados (especialmente o 18:1n-9), que estão presentes nos lípidos subcutâneos, e são utilizados como energia metabólica, por exemplo, durante a fase da gametogénese.

No que respeita aos ácidos gordos do tipo n-6, o mais abundante foi o ácido araquidónico (AA, 20:4n-6) que variou, em média, entre  $1,4\pm0,3$  (areeiro) e  $5,5\pm1,3$  % (tamboril-sovaco-preto). O peixe-espada-preto apresentou valores inferiores aos do tamboril-sovaco-preto e raias. Nas espécies da família Scophthalmidae as percentagens deste composto foram diferentes, respectivamente  $1,4\pm0,3$  e  $4,2\pm1,1$  %, para o areeiro e areeiro-de-quatro-manchas (Tabela 10 e 13).

As percentagens de AA, obtidas neste estudo, são semelhantes às referidas por diversos autores para diversas espécies de peixe, incluindo peixes de profundidade (Økland *et al.*, 2005; Huynh *et al.*, 2007; Zlatanov *et al.*, 2007).

Muito embora o AA possua uma importância biológica (é um dos principais componentes da camada fosfolipídica das membranas e precursor de eicosanóides), o seu teor é negligenciável nos peixes marinhos, visto ocorrer em pequena percentagem a qual se mantém constante, independentemente de todos os factores endógenos e exógenos (Huynh *et al.*, 2007).

Segundo Kołakowska *et al.* (2003), em regra, as percentagens dos ácidos gordos essenciais linoleico (LA, 18:2n-6) e  $\alpha$ -linolénico (ALA, 18:3n-3) são baixas (inferiores a 2 %). Os valores encontrados foram, respectivamente, <2 % (LA) e <1 % (ALA) semelhantes aos observados noutras espécies de peixes marinhos (Huynh *et al.*, 2007; Zlatanov *et al.*, 2007).

No decurso deste trabalho não se verificaram correlações entre o teor total de ácidos gordos saturados, monoinsaturados e polinsaturados e os dados biométricos. Este facto pode ser explicado por se tratar de exemplares de espécies adultas, inclusive os exemplares de pescada-europeia. Os mesmos resultados foram relatados por Jensen *et al.* (2007) num estudo de espécies adultas de arenque.

Do ponto de vista nutricional, o consumo de peixe é extensivamente recomendado pelas autoridades da saúde, não só pela alta qualidade das suas proteínas, mas também por serem uma fonte de ácidos gordos (principalmente de n-3) considerada benéfica para a saúde Humana (Senso *et al.*, 2007).

O teor dos ácidos gordos em percentagem pode ser convertido em mg de ácido por 100 g de tecido muscular (mg/100 g) e esta forma é principalmente adequada à obtenção de resultados a nível nutricional (Tabela 14).

Verificou-se que os peixes que apresentam teores mais elevados de gordura têm níveis mais elevados de todos os ácidos gordos.

De acordo com a Tabela 14 observa-se que o teor polinsaturados mais importantes em termos nutricionais (EPA e DHA) seguem a seguinte ordem ARE>PE>PEP>AQM>PEB>TA>TSP>RA. Todavia, observando os dados da Tabela 15, é de concluir que o teor de ambos foi apenas estatisticamente mais elevado no areeiro quando comparado com o peixe-espada-branco, tamboril-sovaco-preto e raias. Por outro lado, o teor destes ácidos gordos nas raias foi apenas estatisticamente inferior



aos obtidos para o peixe-espada-preto e areeiro. A pescada-europeia revelou teores mais elevados de EPA quando comparados com os das raíais.

Para algumas das espécies referidas neste trabalho encontram-se na literatura valores respeitantes a alguns dos ácidos gordos estudados. Todavia, em relação aos valores referenciados por outros autores não está associado o tamanho da amostra nem o desvio padrão (Tabela 14). Salvo algumas exceções, comparando os resultados do presente trabalho com os obtidos por INSA (2006) e Bandarra *et al.* (2004) verifica-se que a maioria desses resultados unitários se encontra na gama de valores obtida neste trabalho.

O peixe-espada-branco foi umas das exceções mas, tal como foi referido anteriormente, esta diferença deve-se, muito provavelmente, ao teor de gordura na espécie analisada, pois enquanto neste trabalho o teor médio de gordura foi de  $0,4 \pm 0,5$  %, nos trabalhos de INSA (2006) e Bandarra *et al.* (2004) o valor indicado é de 4,0 %.

De igual modo, alguns dos resultados reportados por Bandarra *et al.* (2004) para a pescada-europeia eram mais elevados do que os obtidos. Uma vez mais, a explicação pode assentar no diferente teor de gordura. Aqueles autores referem um teor de gordura de 1,3 % enquanto o verificado neste estudo foi de  $0,7 \pm 0,3$  %, valor este muito semelhante ao referido por INSA (2006) (0,8 %). De relembrar, tal como discutido anteriormente, que os diferentes teores de gordura observados na mesma espécie podem estar relacionados com os factores intrínsecos e extrínsecos.

**Tabela 14** – Comparação dos principais ácidos gordos (mg/100 g) obtidos no presente trabalho e referenciados na literatura.

Ácidos Gordos (mg/100 g)	PEP <sup>#</sup> (n=10)	PEB (n=10)	TA (n=6)	TSP (n=6)	ARE (n=5)	AQM (n=5)	PE (n=7)	RA (n=10)	Referência
<b>Σ Saturados</b>	263±160 (78-511)	88±121 (8,2-419)	63±17 (39-82)	50±10 (40-61)	355±106 (167-420)	142±43 (96-208)	223±120 (86-428)	55±66 (5,3-193)	Presente Trabalho
	500	1000	0	-	-	-	100	0	INSA (2006)*
	269,8	980,2	38,2	-	-	-	537,4	41,2	Bandarra <i>et al.</i> (2004)
<b>Σ Monoinsaturados</b>	761±639 (151-2066)	85±137 (5,9-467)	47±11 (26-57)	33±5,1 (28-39)	502±162 (247-654)	142±72 (72-259)	213±143 (66-449)	30±38 (2,0-107)	Presente Trabalho
	1600	1700	0	-	-	-	100	0	INSA (2006)
	858,2	1673,2	34,2	-	-	-	1343,2	11,4	Bandarra <i>et al.</i> (2004)
<b>Σ Polinsaturados</b>	243±105 (115-399)	111±129 (13-447)	89±19 (61-104)	72±16 (57-101)	372±118 (166-463)	178±36 (138-220)	238±153 (48-471)	80±97 (6,8-293)	Presente Trabalho
	200	800	100	-	-	-	300	100	INSA (2006)
	267,8	777,7	54,9	-	-	-	584,9	62,7	Bandarra <i>et al.</i> (2004)
<b>EPA (20:5 n-3)</b>	27±15 (10-48)	18±30 (1,3-100)	10±3,4 (6,0-14)	8,4±3,5 (4,7-14)	56±21 (23-74)	33±10 (19-46)	47±31 (9,1-96)	7,6±8,4 (0,3-26)	Presente Trabalho
	14,8	60,1	6,2	-	-	-	118,3	6,1	Bandarra <i>et al.</i> (2004)
<b>DHA (22:6 n-3)</b>	133±51 (72-234)	64±64 (9,6-222)	58±12 (40-69)	44±11 (33-64)	215±72 (92-281)	87±16 (67-103)	147±93 (30-281)	49±59 (5,1-169)	Presente Trabalho
	170,5	460,3	38,0	-	-	-	352,6	44,0	Bandarra <i>et al.</i> (2004)
<b>Σ n-3</b>	189±79 (92-304)	96±113 (12-393)	74±17 (51-89)	57±15 (43-85)	324±104 (142-404)	143±32 (106-180)	211±135 (42-415)	65±76 (6,0-223)	Presente Trabalho
	237,0	702,7	48,3	-	-	-	557,5	61,5	Bandarra <i>et al.</i> (2004)
<b>Σ n-6</b>	53±34 (23-135)	15±16 (1,5-54)	15±2,9 (9,9-17)	15±2,2 (12-17)	48±14 (24-58)	35±5 (30-41)	27±18 (6,0-56)	15±22 (0,8-70)	Presente Trabalho
	30,8	75	8,3	-	-	-	27,4	1,5	Bandarra <i>et al.</i> (2004)

#: idêntico à Tabela 6 n - número de exemplares do presente trabalho; média±desvio padrão; (máximo – mínimo); \*os resultado apresentados por este autor em g/100 g foram convertidos em mg/100 g

**Tabela 15** – Resultado dos testes estatísticos efectuados para a comparação entre espécies (somatório dos ácidos gordos saturados, monoinsaturados e polinsaturados e os ácidos gordos EPA e DHA).

Saturados (Teste Kruskal-Wallis)								Monoinsaturados (Teste Kruskal-Wallis)							
	PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE		PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE
PEB <sup>#</sup>	*							PEB	**						
TA	n.s.	n.s.						TA	*	n.s.					
TSP	n.s.	n.s.	n.s.					TSP	**	n.s.	n.s.				
ARE	n.s.	*	n.s.	*				ARE	n.s.	*	n.s.	*			
AQM	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.			AQM	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		
PE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		PE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
RA	**	n.s.	n.s.	n.s.	**	n.s.	**	RA	***	n.s.	n.s.	n.s.	***	n.s.	*

Polinsaturados (Teste Kruskal-Wallis)							
	PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE
PEB	n.s.						
TA	n.s.	n.s.					
TSP	n.s.	n.s.	n.s.				
ARE	n.s.	*	n.s.	*			
AQM	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		
PE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
RA	*	n.s.	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.

EPA (Teste Kruskal-Wallis)								DHA (Teste Kruskal-Wallis)							
	PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE		PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE
PEB	n.s.							PEB	n.s.						
TA	n.s.	n.s.						TA	n.s.	n.s.					
TSP	n.s.	n.s.	n.s.					TSP	n.s.	n.s.	n.s.				
ARE	n.s.	*	n.s.	*				ARE	n.s.	*	n.s.	*			
AQM	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.			AQM	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		
PE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		PE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
RA	*	n.s.	n.s.	n.s.	**	n.s.	**	RA	*	n.s.	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.

<sup>#</sup>: idêntico à Tabela 6; n.s.- não significativo; \* p< 0,05; \*\* p<0,01; \*\*\*p<0,001

As características nutricionais dos lípidos das 8 espécies em estudo foram avaliadas tendo em consideração alguns parâmetros nutricionais, nomeadamente o total dos ácidos gordos EPA e DHA (EPA+DHA), a razão entre os somatórios dos polinsaturados e saturados (Poli./Sat.), a razão n-3/n-6, a razão hipocolesterolémico/hipercolesterolémico (h/H) e os índices de trombogenicidade (IT) e aterogenicidade (IA) (Tabela 16).

**Tabela 16** – Parâmetros nutricionais associados aos lípidos das espécies estudadas.

<b>Indicies/Parâmetros Nutricionais</b>	<b>PEP<sup>#</sup> (n=10)</b>	<b>PEB (n=10)</b>	<b>TA (n=6)</b>	<b>TSP (n=6)</b>	<b>ARE (n=5)</b>	<b>AQM (n=5)</b>	<b>PE (n=7)</b>	<b>RA (n=10)</b>
<b>EPA+DHA (mg/160 g)</b>	257	131	109	84	431	192	310	91
<b>Poli./Sat.</b>	1,13	1,44	1,42	1,44	1,04	1,29	0,95	1,43
<b>n-3/n-6</b>	3,6	6,8	5,1	4,0	6,7	4,1	7,6	5,5
<b>h/H</b>	2,82	2,60	2,43	2,62	1,14	2,08	1,92	2,19
<b>IT</b>	0,23	0,21	0,23	0,24	0,41	0,25	0,30	0,23
<b>IA</b>	0,26	0,37	0,37	0,36	0,37	0,46	0,51	0,40

#: idêntico à Tabela 6; n - número de exemplares do presente trabalho

Considerando o consumo *per capita* da população portuguesa (57 kg/ano), calculou-se o aporte de EPA+DHA considerando uma porção de peixe de 160 g. Assim a soma dos ácidos gordos EPA e DHA nas espécies estudadas apresentou uma gama de variação média entre 84 e 431 mg/100 g, respectivamente no tamboril-sovaco-preto e no areeiro.

Deste modo, tendo em conta a recomendação do ISSFAL (2004), que sugere uma ingestão diária de 500 mg/dia de EPA+DHA de modo a prevenir problemas cardiovasculares, as quantidades a ingerir para satisfazer esta necessidade são cerca de 200 g no caso do areeiro. Nas restantes espécies essa quantidade (200 g) serve apenas para colmatar uma parte das necessidades diária destes ácidos gordos. Segundo Simopoulos (2000, 2002, 2004) a dose adequada (AI) de EPA+DHA deve situar-se ao redor de 650 mg/dia.

A razão entre a soma dos ácidos gordos polinsaturados e a soma dos ácidos gordos saturados é um índice muito usado para avaliar a qualidade nutricional de uma gordura sendo o valor recomendado para uma dieta equilibrada de, no mínimo, 0,45 (Department of Health, 1994). Segundo Simopoulos (2002) a recomendação para a população Americana é de uma razão de 1. Todas as espécies estudadas apresentaram um valor superior ao recomendado (0,45), que oscilou entre um mínimo de 0,95 na pescada-europeia e um máximo de 1,44 no peixe-espada-branco e tamboril-sovaco-preto. Teores superiores de polinsaturados comparativamente com os saturados foram

também verificados por diversos autores em diversas espécies de peixes (Osman *et al.*, 2001; Økland *et al.*, 2005; Özogul & Özogul, 2007; Özogul *et al.*, 2007).

Segundo Santos-Silva *et al.* (2002) a gordura que apresente uma relação polinsaturados/saturados inferior a 0,45 é considerada pouco interessante para o consumidor, por induzir aumento dos níveis de colesterolémia. No entanto, estes autores, referem também que o cálculo de um índice desta natureza, baseado apenas na estrutura química dos ácidos gordos, pode não ser a forma mais adequada de avaliar o valor nutricional de uma dada gordura. Este índice considera que todos os saturados induzem um aumento do colesterol, o que apenas está descrito para os ácidos gordos 12:0, 14:0 e o 16:0 (WHO, 2003<sup>a</sup>; Krummel, 2008) e, por outro lado, ignora os efeitos dos ácidos gordos monoinsaturados, como, por exemplo, o ácido oleico. Este ácido gordo (18:1n-9) está associado, no Homem, à redução dos níveis plasmáticos de colesterol LDL (WHO, 2003<sup>a</sup>; Krummel, 2008).

A razão dos polinsaturados das famílias n-3 e n-6 é outro índice usado frequentemente para avaliar o valor nutricional das gorduras. Verifica-se que a sua importância está muito associada ao facto das dietas do tipo “Ocidental” serem actualmente muito deficientes em ácidos gordos da família n-3. Segundo Simopoulos, (1999, 2000, 2006) as razões actuais de 1/10-30 são susceptíveis de promover o desenvolvimento de muitas doenças cardiovasculares, degenerativas, inflamatórias, entre outras.

No sentido de colmatar esta tendência, várias recomendações nutricionais têm sido feitas no intuito de aumentar os níveis de polinsaturados de forma a garantir que a razão n-3/n-6 não seja inferior a 0,25 (Department of Health, 1994).

Ainda segundo Simopoulos (2004) a razão n-3/n-6 óptima variar no mínimo entre 1/1 e 1/4.

Neste trabalho a razão n-3/n-6 foi muito superior a 0,25, tendo variado entre 3,6 (peixe-espada-preto) e 7,6 na pescada-europeia, o que demonstra uma predominância da família n-3, sobretudo EPA e DHA, em relação ao n-6. Estes resultados estão de acordo com outros obtidos em espécies de peixes selvagens (Osman *et al.*, 2001; Økland *et al.*, 2005; Jensen *et al.*, 2007; Özogul & Özogul, 2007; Özogul *et al.*, 2007). Por outro lado, Valfré *et al.* (2003) refere que a razão n-3/n-6 nos peixes marinhos é muito superior à dos peixes de água doce variando, respectivamente, entre 5-10 e 1-4.

O índice de trombogenicidade (IT) e o índice de aterogenicidade (IA) foram propostos por Ulbritch & Southgate (1991) com o objectivo de não se considerar

apenas a família dos ácidos gordos, mas também o seu efeito biológico. Assim, IT relaciona os teores dos ácidos gordos saturados 14:0 16:0 e 18:0 (pró-trombóticos) com os teores de ácidos gordos monoinsaturados e polinsaturados n-3 e n-6 (anti-trombóticos), indicando a contribuição que o produto alimentar pode ter na formação de coágulos nos vasos sanguíneos (Senso *et al.*, 2007). Por seu lado, o IA baseia-se na informação acerca do efeito que os diversos ácidos gordos exercem no colesterol plasmático, nomeadamente na formação das LDL e HDL.

A equação, definida no capítulo 2 (2.4.5), proposta por Ulbricht & Southgate (1991), reflecte os diferentes graus de aterogenicidade para os três ácidos gordos saturados. Assim, os autores atribuíram ao 12:0 e ao 16:0 um factor 1 enquanto ao 14:0 atribuiu um factor 4. Por outro lado, estes autores consideram que quer os monoinsaturados quer os polinsaturados n-3 e n-6 são igualmente eficientes na diminuição da aterogenicidade (Senso *et al.*, 2007; Turan *et al.*, 2007). Deste modo, quanto menor for o valor destes índices (IT e IA) maior qualidade tem a fracção gorda do pescado.

Os valores e IT oscilaram entre 0,21 (peixe-espada-branco) e 0,41 (areeiro) enquanto o IA variou entre 0,26 (peixe-espada-preto) e 0,51 (pescada-europeia). Os valores do IT são próximos dos obtidos por Valfré *et al.* (2003) e Turan *et al.* (2007) para diversas espécies de peixes selvagens. Quanto aos valores de IA, obtidos por alguns destes autores, observou-se que eram superiores aos do presente estudo, tendo, por exemplo, a anchova e o bacalhau apresentado valores de 1,35 e 0,55, respectivamente (Valfré *et al.*, 2003), enquanto que o IA da raia-lenga foi 2,37 (Turan *et al.*, 2007).

Os baixos valores de IT e IA encontrados nas espécies estudadas sugerem a boa qualidade da fracção lipídica.

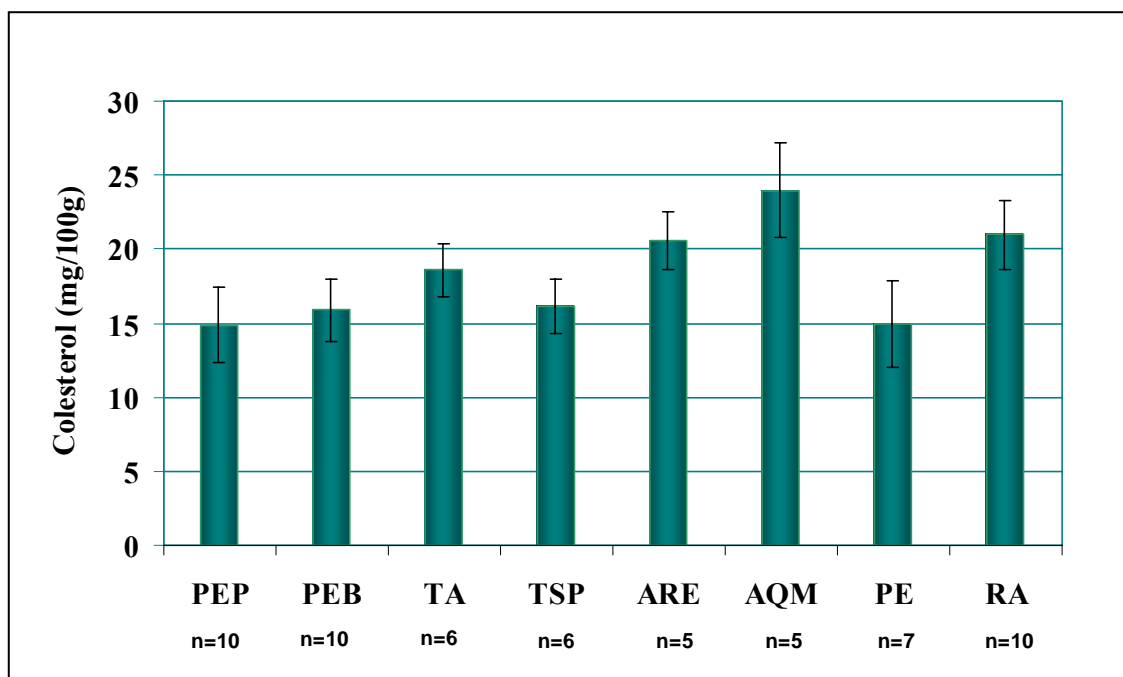
Por seu lado, o índice hipocolesterolémicos/hipercolesterolémicos (h/H) considera os efeitos funcionais dos ácidos gordos na avaliação nutricional da gordura. Tal como nos índices anteriores não existem valores recomendados, pelo que se assume que quanto mais elevado mais saudável será a gordura. Assim, verificou-se que o peixe-espada-preto ( $h/H = 2,82$ ) apresenta, de acordo com este índice, a gordura mais saudável, seguido do tamboril-sovaco-preto, peixe-espada-branco, tamboril, raia, areeiro-de-quatro-manchas, pescada-europeia e areeiro. É importante referir que não foram encontrados na literatura valores de comparação deste índice em espécies de peixe selvagens.

Os resultados obtidos para alguns dos parâmetros estudados, sugerem que a gordura destas espécies é mais saudável do que a da carne (Santos-Silva *et al.*, 2002 e 2004) e óleos vegetais (Valfré *et al.*, 2003).

### 3.2.3 Colesterol

Os teores médios de colesterol para as espécies estudadas, expressos em mg/100 g de parte edível, estão representados na Figura 19 e descritos individualmente no Anexo III (Quadro III) para cada espécie.

Os resultados estatísticos permitem verificar que entre as duas espécies de peixe-espada estudadas, de tamboril e as de areeiro não existem diferenças significativas nos teores de colesterol no músculo (Tabela 17). Mathew *et al.* (1999) verificou, num estudo efectuado em 97 espécies diferentes de peixes, que as variações do teor de colesterol entre espécies pertencentes à mesma família não são significativas. Estes autores concluíram que o teor de colesterol parece ser determinado geneticamente.



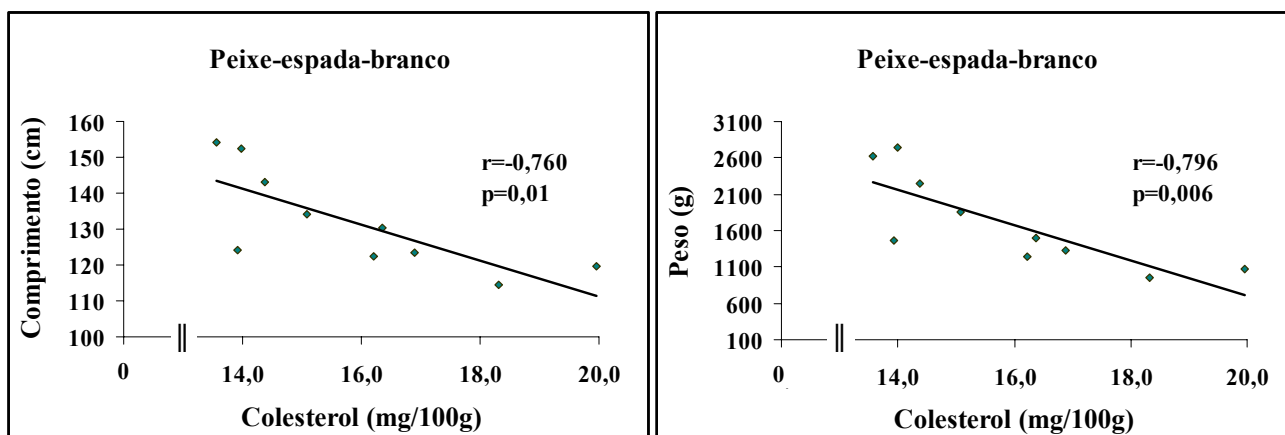
**Figura 19** – Teor de colesterol, expresso em mg/100 g (média±desvio padrão), na parte edível das espécies estudadas.

**Tabela 17** – Resultado do teste estatístico efectuado para a comparação entre espécies (colesterol).

Colesterol (Teste Tukey)							
	PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE
PEB <sup>#</sup>	n.s.						
TA	n.s.	n.s.					
TSP	n.s.	n.s.	n.s.				
ARE	**	*	n.s.	n.s.			
AQM	***	***	*	***	n.s.		
PE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	**	***	
RA	***	***	n.s.	**	n.s.	n.s.	***

<sup>#</sup>: idêntico à Tabela 6; n.s.- não significativo; \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$

Embora na maioria das espécies estudadas se tenha verificado uma correlação negativa entre o teor de colesterol e os dados biométricos, esta apenas foi significativa para o peixe-espada-branco (Figura 20). Estes resultados estão de acordo com os publicados por Mathew *et al.* (1999) que refere que os peixes mais jovens aparentemente possuem teores de colesterol superiores em comparação com os peixes de maiores dimensões.

**Figura 20** – Correlações significativas entre o teor de colesterol (mg/100 g) e os dados biométricos do peixe-espada-branco.

Num estudo efectuado por Nunes *et al.* 2003, em produtos da pesca comercializados em Portugal, verificou-se que, de um modo geral, os peixes mais magros apresentavam valores de colesterol inferiores a 50 mg/100 g. De igual modo, os resultados obtidos, em todas as espécies estudadas, são também inferiores àquele valor.

A comparação dos resultados deste constituinte revelou diferenças significativas entre algumas espécies (Tabela 17). Deste modo, os areeiros e as raias foram as que apresentaram valores mais elevados e estatisticamente diferentes dos teores encontrados nas duas espécies de peixe-espada e na pescada-europeia. Por outro lado, o



tamboril-sovaco-preto apresentou um teor deste esterol mais baixo quando comparado com as raias e o areeiro-de-quatro-manchas.

De acordo com Oehlenschläger (2006) os valores de colesterol são normalmente muito baixos no peixe-espada-preto e no tamboril, comparativamente aos verificados noutras espécies. No presente trabalho, os valores médios encontrados para o peixe-espada-preto, peixe-espada-branco, tamboril e tamboril-sovaco-preto foram, respectivamente,  $14,9 \pm 2,5$ ;  $15,9 \pm 2,1$ ;  $18,6 \pm 1,8$  e  $16,1 \pm 1,8$  mg/100 g. A sua comparação com os publicados pelo INSA (2006) revela para o peixe-espada-preto, peixe-espada-branco e tamboril que estes últimos são superiores, respectivamente, 24 mg/100 g, 38 mg/100 g e 42 mg/100 g. Por outro lado, Favier *et al.* (1995) referem um teor de 20,0 mg/100 g para o tamboril valor este que está muito próximo do obtido no presente trabalho.

Oehlenschläger (2006) reportou valores mais elevados para o areeiro, capturado noutra área geográfica (32-54 mg/100 g, valor mínimo e máximo respectivamente) do que os encontrados neste estudo. Este autor verificou, no entanto, em espécies da mesma ordem sistemática (Pleuronectiformes, peixes-planos), como solha, linguado e alabote, que existia uma grande variabilidade nos teores obtidos, tendo sido registada uma gama de variação entre 10 e 62 mg/100 g.

Na pescada-europeia o teor médio de colesterol foi de  $15,0 \pm 3,0$  mg/100 g. Segundo Oehlenschläger (2006), de um modo geral, os gadídeos, ordem em que se inclui esta espécie, apresentam baixos teores de colesterol. Este autor obteve, para esta espécie, teores de colesterol que oscilaram entre os 15 e 47 mg/100 g. INSA (2006) apontam para valores ao redor de 19 mg/100 g.

No que respeita às raias, o teor reportado pelo INSA (2006) (39 mg/100 g) foi superior ao encontrado no presente trabalho ( $21,0 \pm 2,3$  mg/100 g). No entanto, Lytle & Lytle (1994), num estudo efectuado em raias e tubarões, verificaram que o teor deste esterol nos Elasmobrânquios podia variar entre 16 e 69 mg/100 g.

Segundo Oehlenschläger (2000), os consumidores têm muitas vezes interiorizado que os alimentos com teores elevados de gordura apresentam também teores mais elevados de colesterol. No entanto, tal como o verificado por diversos autores (Mathew *et al.*, 1999; Osman *et al.*, 2001; Piironen *et al.*, 2002; Oehlenschläger, 2000, 2006), também neste trabalho não foi encontrada para nenhuma das espécies qualquer correlação positiva significativa entre o teor de colesterol e o teor de gordura. Oehlenschläger (2000, 2006) verificou que em muitas espécies de peixe gordo o teor de

colesterol decresce com o aumento do teor lipídico no músculo. Segundo este autor, este facto pode ser explicado tendo em conta que o colesterol é um componente das membranas celulares do tecido muscular do peixe e do número de células desse tecido permanecer sensivelmente constante no animal adulto. Este autor indica também que ao não existir acumulação de colesterol no tecido adiposo do peixe, o seu teor permanece sensivelmente constante ainda que se verifique um aumento do teor de gordura nesse tecido.

Muitos autores referem que os níveis de colesterol num regime alimentar adequado não deve exceder 300 mg/dia (Nunes *et al.*, 2003, Wąsowicz, 2003; IOM, 2005; Lichtenstein *et al.*, 2006). Atendendo aos resultados obtidos e tendo em conta as porções usuais que são consumidas, cerca de 160 g, os níveis de colesterol nas espécies estudadas não representam uma contribuição significativa em termos deste composto.

### 3.2.4 $\alpha$ -Tocoferol

Os teores de  $\alpha$ -tocoferol analisados no músculo das diferentes espécies de peixes estudadas, expressos em mg/100 g de produto, encontram-se na Tabela 18 e no Anexo III (Quadro III).

O teor médio de  $\alpha$ -tocoferol variou entre um mínimo de 0,01 e um máximo de 7,03 mg/100 g, respectivamente no areeiro-de-quatro-manchas e peixe-espada-preto. Comparando estatisticamente o teor determinado entre as espécies, constata-se que existem diferenças significativas entre o peixe-espada-preto ( $1,59 \pm 2,03$  mg/100 g) relativamente ao tamboril-sovaco-preto ( $0,07 \pm 0,04$  mg/100 g), pescada-europeia ( $0,03 \pm 0,01$  mg/100 g) e raias ( $0,06 \pm 0,03$  mg/100 g), enquanto o areeiro ( $1,41 \pm 1,05$  mg/100 g) foi apenas estatisticamente diferente da pescada-europeia (Tabela 19).

Para nenhuma das espécies foram obtidas correlações significativas entre o comprimento e peso dos indivíduos e o teor desta vitamina.

**Tabela 18** – Teor de  $\alpha$ -tocoferol nas espécies estudadas (mg/100 g).

	PEP <sup>#</sup> n=10	PEB n=10	TA n=6	TSP n=6	ARE n=3	AQM n=5	PE n=5	RA n=10
<b><math>\alpha</math>-Tocoferol</b>	1,59 $\pm$ 2,03	0,16 $\pm$ 0,10	0,14 $\pm$ 0,18	0,07 $\pm$ 0,04	1,41 $\pm$ 1,05	0,22 $\pm$ 0,27	0,03 $\pm$ 0,01	0,06 $\pm$ 0,03
<b>(mg/100 g)</b>	(0,28-7,03)	(0,05-0,35)	(0,02-0,50)	(0,03-0,13)	(0,64-2,61)	(0,01-0,62)	(0,02-0,04)	(0,03-0,10)

#: idêntico à Tabela 6; n - número de exemplares do presente trabalho; (média $\pm$ desvio padrão) (máximo - mínimo)

**Tabela 19** – Resultado do teste estatístico efectuado para a comparação entre espécies ( $\alpha$ -tocoferol).

$\alpha$ -tocoferol (Teste Kruskal-Wallis)							
	PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE
PEB <sup>#</sup>	n.s.						
TA	n.s.	n.s.					
TSP	*	n.s.	n.s.				
ARE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.			
AQM	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		
PE	***	n.s.	n.s.	n.s.	**	n.s.	
RA	**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

#: idêntico à Tabela 6; n.s.- não significativo; \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$

Os resultados obtidos revelam uma grande variabilidade dos níveis desta vitamina no tecido muscular na maioria das espécies. Todavia, esta situação é usual, pois, segundo Syväoja & Salminen (1985) e Kuhnlein *et al.* (2006), o teor de  $\alpha$ -tocoferol pode variar muito, não só entre espécies, mas também, dentro da mesma espécie, sendo, por vezes, o desvio padrão da mesma ordem de grandeza ou superior à média, como verificaram Kuhnlein *et al.* (2006) para o salvelino-ártico  $0,11 \pm 0,109$  mg/100 g e para a truta  $0,23 \pm 0,458$  mg/100 g. Estes autores sugerem que esta variação pode dever-se a factores como a época e zona de captura. Por outro lado, Lall & Parazo (1995) referem também que o teor em vitaminas é mais variável do que qualquer outro constituinte da dieta e que para muitos peixes a gama de valores publicados é muito ampla.

De acordo com, Syväoja & Salminen (1985) e Lall & Parazo (1995), os peixes mais magros possuem menos vitamina E no músculo comparativamente com os mais gordos. É sabido que algumas espécies de peixes magras como o bacalhau, que pertence à ordem Gadiformes, tal como a pescada-europeia, armazenam grandes quantidades de vitaminas lipossolúveis, nomeadamente de vitamina E, no fígado mas não no músculo (Lall & Parazo, 1995). Este facto foi também reportado para outras espécies de peixe (Peraza *et al.*, 1998; Kuhnlein *et al.*, 2006). Por outro lado, Peraza *et al.* (1998) referem que os peixes durante consumos restritos de  $\alpha$ -tocoferol, apresentam uma grande redução desta vitamina no fígado e no tecido muscular. Estes factos podem, provavelmente, justificar os baixos níveis de  $\alpha$ -tocoferol verificados em algumas das espécies estudadas.

Atendendo aos resultados reportados pelo INSA (2006), o teor de  $\alpha$ -tocoferol para as espécies analisadas nesse trabalho variou entre 0,038 e 4,0 mg/100 g, obtidos respectivamente na abrótea e salmão. A comparação dos resultados obtidos com os

publicados pelo INSA (2006), para as espécies em comum nos dois trabalhos, revela que apenas os teores de  $\alpha$ -tocoferol para o peixe-espada-preto (1,1 mg/100 g) e tamboril (0,23 mg/100 g) são da mesma ordem de grandeza enquanto nas restantes espécies (peixe-espada-branco, pescada-europeia e raias) são diferentes. Dada a variabilidade desta vitamina nos tecidos dos peixes, tal como já referido previamente, e ao facto do INSA (2006) apresentar apenas um valor (sem o respectivo desvio padrão) torna-se difícil relacionar os resultados.

Segundo o IOM (2000 e 2005) a ingestão alimentar recomendada (RDA-recommended dietary allowances) de  $\alpha$ -tocoferol é de 15 mg por dia para um adulto, deste modo, uma refeição de 160 g (atendendo ao consumo por dia *per capita* português) de peixe-espada-preto constitui um bom contributo para se atingir a RDA.

### 3.3 Elementos essenciais

No presente trabalho estudou-se o teor de vários elementos essenciais na fracção muscular das espécies de peixe. A concentração de alguns desses elementos foi também avaliada no fígado do peixe-espada-preto e das duas espécies de tamboril, na medida em que este órgão, por vezes, é consumido pela população portuguesa. Como órgão de destoxificação e armazenagem é de esperar que exiba, em regra, níveis mais elevados destes elementos que os encontrados no músculo (Mormede & Davies, 2001; Carvalho *et al.*, 2002).

#### 3.3.1 Macroelementos essenciais

O teor dos macroelementos analisados, potássio (K), sódio (Na), cloro (Cl), enxofre (S), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) encontram-se na Tabela 20 e individualizados no Anexo III (Quadro IV).

Na Tabela 21 encontra-se o resultado dos testes estatísticos efectuados para a comparação entre espécies no que respeita aos teores destes macroelementos encontrados no músculo.

**Tabela 20** – Teor de macromelementos, expresso em mg/kg, nas espécies estudadas.

Macroelementos (mg/kg)										
Espécie <sup>#</sup>	K		Na	Cl		S		Mg	Ca	
Tecido	Músculo	Fígado	Músculo	Músculo	Fígado	Músculo	Fígado	Músculo	Músculo	Fígado
<b>PEP</b>	2966±550 (2153-4326)	2421±438 (1993-3184)	1568±502 (1038-2737)	1218±273 (865-1637)	2870±660 (1971-3805)	1242±336 (747-1718)	2167±199 (1916-2584)	280±18 (246-299)	119±37 (76-179)	275±236 (114-886)
<b>PEB</b>	3638±305 (3089-4180)	-	929±286 (602-1406)	1131±458 (666-1936)	-	1289±192 (971-1579)	-	248±23 (218-299)	82±16 (62-113)	-
<b>TA</b>	2566±312 (2184-2987)	1169±216 (986-1445)	1961±297 (1588-2279)	1195±263 (873-1504)	1207±140 (1052-1448)	1220±134 (1054-1362)	< LD	263±19 (240-285)	93±33 (70-159)	89±28 (41-112)
<b>TSP</b>	2975±294 (2600-3336)	1111±277 (834-1482)	1648±411 (1247-2218)	1214±234 (912-1592)	1648±411 (1247-2218)	1378±223 (936-1543)	< LD	273±50 (203-312)	98±18 (73-118)	104±19 (76-121)
<b>ARE</b>	2768±375 (2244-3234)	-	1548±296 (1369-1990)	1129±245 (915-1517)	-	1521±218 (1268-1842)	-	375±23 (351-412)	142±21 (120-167)	-
<b>AQM</b>	2684±209 (2434-2982)	-	2018±315 (1546-2313)	1546±379 (984-2189)	-	1803±261 (1364-2044)	-	436±29 (406-469)	388±190 (162-634)	-
<b>PE</b>	3511±224 (3179-3825)	-	2187±356 (1650-2196)	1333±493 (641-2320)	-	1463±158 (1231-1761)	-	366±31 (320-419)	215±197 (84-742)	-
<b>RA</b>	3261±246 (2882-3779)	-	1295±351 (876-1993)	1541±387 (971-2201)	-	2005±283 (1602-2491)	-	266±18 (248-303)	144±57 (98-265)	-

<sup>#</sup>: idêntico à Tabela 6; média± desvio padrão; (máximo-mínimo); LD – limite de detecção

**Tabela 21** – Resultado dos testes estatísticos efectuados para a comparação entre espécies (teor de K, Na, Cl, S, Mg e Ca no músculo).

K (Teste Tukey)								Na (Teste Tukey)							
	PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE		PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE
PEB <sup>#</sup>	**							PEB	**						
TA	n.s.	***						TA	n.s.	***					
TSP	n.s.	n.s.	n.s.					TSP	n.s.	*	n.s.				
ARE	n.s.	**	n.s.	n.s.				ARE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.			
AQM	n.s.	***	n.s.	n.s.	n.s.			AQM	n.s.	***	n.s.	n.s.	n.s.		
PE	*	n.s.	***	n.s.	**	***		PE	**	***	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
RA	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.	*	n.s.	RA	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	*	***
Cl (Teste Tukey)								S (Teste Tukey)							
	PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE		PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE
PEB	n.s.							PEB	n.s.						
TA	n.s.	n.s.						TA	n.s.	n.s.					
TSP	n.s.	n.s.	n.s.					TSP	n.s.	n.s.	n.s.				
ARE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.				ARE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.			
AQM	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.			AQM	***	**	**	*	n.s.		
PE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		PE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
RA	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	RA	***	***	***	***	*	n.s.	***
Mg (Teste Kruskal-Wallis)								Ca (Teste Kruskal-Wallis)							
	PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE		PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE
PEB	n.s.							PEB	n.s.						
TA	n.s.	n.s.						TA	n.s.	n.s.					
TSP	n.s.	n.s.	n.s.					TSP	n.s.	n.s.	n.s.				
ARE	n.s.	**	n.s.	n.s.				ARE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.			
AQM	*	***	*	n.s.	n.s.			AQM	n.s.	***	**	*	n.s.		
PE	n.s.	***	*	n.s.	n.s.	n.s.		PE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
RA	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	**	*	RA	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

#: idêntico à Tabela 6; n.s.- não significativo; \* p< 0,05; \*\* p<0,01; \*\*\*p<0,001

### Potássio, Sódio e Cloro

Nas espécies estudadas o potássio foi o macroelemento mais abundante seguido do sódio e cloro. De acordo com Oehlenschläger (1997) e Lall (1995) o teor de potássio é sempre mais elevado do que o de sódio no tecido muscular dos peixes, tanto dos provenientes de água doce como marinha. Este facto foi igualmente verificado por outros autores (Causeret, 1962; Belitz & Grosch, 1999; Martínez-Valverde *et al.*, 2000; Tahvonen *et al.*, 2000; Bandarra *et al.*, 2004; Belitz *et al.*, 2004; Nunes *et al.*, 2003, 2006, INSA, 2006).

O teor deste mineral oscilou entre 2153 e 4326 mg/kg e 834 e 3184 mg/kg observados, respectivamente, no músculo e fígado. Segundo Belitz & Grosch (1999) o músculo do peixe contém, em média, cerca de 3500 mg de potássio por kg, podendo a gama estar compreendida entre 3000-4000 mg/kg (Pigott & Tucker, 1990).

Com base nos dados referidos na Tabela 20 e da análise estatística efectuada (Tabela 21), verifica-se que o peixe-espada-branco e a pescada-europeia foram as espécies que apresentaram os teores mais elevados de potássio (3638±305 mg/kg e 3511±224 mg/kg, respectivamente) em comparação com os valores determinados no peixe-espada-preto (2966±550 mg/kg), tamboril (2566±312 mg/kg), areeiro (2768±375

mg/kg) e areeiro-de-quatro-manchas ( $2684 \pm 209$  mg/kg). Por outro lado, as raia apresentaram concentrações mais elevadas ( $3261 \pm 246$  mg/kg) que os encontrados no tamboril e areeiro-de-quatro-manchas.

Carvalho *et al.* (2005) referem que dentro da mesma espécie são frequentemente encontradas grandes variações do teor em potássio, o que corrobora os dados obtidos no presente trabalho, pois, por exemplo, no tecido muscular do peixe-espada-preto a gama de concentração esteve compreendida entre 2153 a 4326 mg/kg.

Os resultados de potássio obtidos para as diferentes espécies são, de um modo geral, da mesma ordem de grandeza que os reportados por outros autores (Tabela 22) não só em trabalhos realizados nas mesmas espécies de peixes estudadas (Causeret, 1962; Lall, 1995; Martínez-Valverde *et al.*, 2000; Tahvonen *et al.*, 2000; Bandarra *et al.*, 2004; INSA, 2006; Nunes *et al.*, 2006) como em outros efectuados em diferentes espécies de peixes marinhos (Teeny *et al.*, 1984; Causeret, 1962, Lall, 1995; Karakoltsidis *et al.*, 1995; Belitz & Grosch, 1999; Tahvonen *et al.*, 2000; Jodral-Segado *et al.*, 2003; Belitz *et al.*, 2004).

No fígado, o peixe-espada-preto foi a espécie que apresentou a concentração mais elevada de potássio ( $2421 \pm 438$  mg/kg) quando comparada com a encontrada no tamboril ( $1169 \pm 216$  mg/kg) e tamboril-sovaco-preto ( $1111 \pm 277$  mg/kg) (Teste Tukey;  $p < 0,05$ ).

Entre os dois tecidos analisados, o fígado revelou níveis deste elemento mais baixo que o tecido muscular (Mann-Whittney's *U*-test para o PEP e TSP e *T* de Student para o TA;  $p < 0,05$ ).

Segundo Oehlenschläger (1997), o conteúdo em cloretos, de ora avante designado de teor de cloro, difere consideravelmente entre espécies enquanto o do sódio é praticamente constante. No entanto, neste trabalho não se encontraram diferenças significativas nos teores de cloro contrariamente ao verificado para o sódio.

Assim, os resultados de sódio no peixe-espada-branco eram mais baixos ( $929 \pm 286$  mg/kg) quando comparados com os do peixe-espada-preto ( $1568 \pm 502$  mg/kg), tamboril ( $1961 \pm 297$  mg/kg), tamboril-sovaco-preto ( $1648 \pm 411$  mg/kg), areeiro-de-quatro-manchas ( $2018 \pm 315$  mg/kg) e pescada-europeia ( $2187 \pm 356$  mg/kg). Por outro lado, os teores encontrados no tamboril, areeiro-de-quatro-manchas e pescada-europeia eram superiores aos verificados nas raia ( $1295 \pm 351$  mg/kg).

Atendendo aos dados publicados por outros autores (Causeret, 1962; Teeny *et al.*, 1984; Lall, 1995; Karakoltsidis *et al.*, 1995; Martínez-Valverde *et al.*, 2000; Tahvonen *et al.*, 2000; Belitz & Grosch, 1999; Belitz *et al.*, 2004), verifica-se que existe uma gama relativamente variada de valores no que respeita aos teores de sódio nos peixes. No entanto, com algumas excepções, a gama de concentrações obtidas para o peixe-espada-preto (1038-2737 mg/kg), peixe-espada-branco (602-1406 mg/kg), pescada-europeia (1650-2196 mg/kg) e raias (876-1993 mg/kg) apresenta valores coincidentes com os referenciados noutros trabalhos (Martínez-Valverde *et al.*, 2000; Bandarra *et al.*, 2004; INSA, 2006; Nunes *et al.*, 2006) (Tabela 22).

Uma dessas excepções foi o tamboril, que no presente trabalho apresentou valores mais elevados (1588-2279 mg/kg) que os reportados por Bandarra *et al.* (2004), INSA (2006) e Nunes *et al.* (2006) que apresentam um valor unitário de 860 mg/kg.

Como já referido, as espécies estudadas não apresentaram diferenças significativas no que respeita à concentração em cloro no músculo, tendo a média, efectuada entre todas as espécies, rondado os 1300 mg/kg. A gama de valores obtida (641-2320 mg/kg) é semelhante à referida por Causeret (1962) para outras espécies de peixes marinhos (600-2500 mg/kg). Por outro lado, a gama de concentração encontrada para o peixe-espada-preto e branco, tamboril e pescada-europeia integra os valores referidos por Nunes *et al.* (2006) para as mesmas espécies.

De um modo geral, na literatura, os dados disponíveis sobre o teor de cloro no peixe são escassos (Lall, 1995). Grag & Ramakrishna (2006) mencionam que, elevados teores de cloro nos peixes podem ser resultado de exposição a contaminantes organoclorados.

No fígado, contrariamente ao verificado no músculo, foram verificadas diferenças entre as espécies, tendo o peixe-espada-preto apresentado níveis mais elevados de cloro ( $2870 \pm 660$  mg/kg) quando comparado com os obtidos nas duas espécies de tamboril (Teste Kruskal-Wallis;  $p < 0,05$ ).

Entre tecidos, o teor de cloro no fígado do peixe-espada-preto foi mais elevado do que o verificado no tecido muscular (Mann-Whitney's *U*-test;  $p < 0,05$ ) enquanto que as concentrações no músculo e fígado das duas espécies de tamboril não revelaram diferenças estatísticas significativas (*T* de Student;  $p > 0,05$ ).



### ***Enxofre***

A concentração enxofre (S) no tecido muscular variou entre 747 mg/kg e 2491 mg/kg, respectivamente no peixe-espada-preto e raias (Tabela 20). Estes valores estão de acordo com Causeret (1962) que indica que os teores de enxofre no peixe variam usualmente entre 1000 a 3000 mg/kg.

As raias ( $2005 \pm 283$  mg/kg) e o areeiro-de-quatro-manchas ( $1803 \pm 261$  mg/kg) foram as espécies que apresentaram teores mais elevados relativamente aos obtidos em ambas as espécies de peixe-espada ( $1242 \pm 336$  mg/kg e  $1289 \pm 192$  mg/kg, respectivamente para o PEP e PEB) e nas duas espécies de tamboril ( $1220 \pm 134$  mg/kg e  $1378 \pm 223$  mg/kg, respectivamente para o TA e TSP). As raias apresentaram também concentrações mais elevadas de S do que as verificadas no areeiro ( $1521 \pm 218$  mg/kg) e pescada-europeia ( $1463 \pm 158$  mg/kg).

Segundo Belitz *et al.* (2004), as variações verificadas, não só entre espécies, mas também dentro da mesma espécie, resultam do facto dos teores de S nos tecidos dos peixes e outros organismos estar dependente do consumo, através da sua dieta alimentar, de aminoácidos que contém este elemento, mas também poderem ser devidas, em parte, às diferentes proporções de metionina e cisteína existentes nos tecidos edíveis das espécies (Belitz *et al.*, 2004).

Na medida em que ambas as espécies de tamboril estudadas apresentaram teores de enxofre abaixo do limite de detecção no fígado, podemos dizer que o peixe-espada-preto foi a espécie que apresentou a concentrações mais elevadas deste elemento neste órgão ( $2167 \pm 199$  mg/kg).

Contrariamente ao verificado nas espécies de tamboril, o teor de S, encontrado no peixe-espada-preto, foi mais elevado no fígado quando comparado com o encontrado no tecido muscular (*T* de Student;  $p < 0,05$ ).

### ***Cálcio e Magnésio***

No presente trabalho o teor de magnésio variou no músculo entre 203 (tamboril-sovaco-preto) e 469 mg/kg (areeiro-de-quatro-manchas) ao passo que o de cálcio se situou entre 62 (peixe-espada-branco) e 742 mg/kg (pescada-europeia).

Comparativamente com o peixe-espada-branco ( $82 \pm 16$  mg/kg), tamboril ( $93 \pm 33$  mg/kg) e tamboril-sovaco-preto ( $98 \pm 18$  mg/kg), o areeiro-de-quatro-manchas foi a espécie que apresentou os valores mais elevados de Ca no músculo ( $388 \pm 190$  mg/kg).

O teor de Mg no tecido muscular do areeiro-de-quatro-manchas revelou ser mais elevado ( $436 \pm 29$  mg/kg) que o encontrado no tecido muscular das duas espécies de peixe-espada ( $280 \pm 18$  e  $248 \pm 23$  mg/kg, respectivamente para o PEP e PEB), no tamboril ( $263 \pm 19$  mg/kg) e nas raias ( $266 \pm 118$  mg/kg). Por outro lado, este teor foi mais baixo no peixe-espada-branco, quando comparado com o verificado no areeiro ( $375 \pm 23$  mg/kg) e pescada-europeia ( $366 \pm 31$  mg/kg), tendo esta última espécie revelado teores mais elevados que o tamboril e raias.

O peixe-espada-preto apresentou as concentrações mais elevadas de Ca no fígado quando comparadas com as espécies de tamboril (Teste Kruskal-Wallis;  $p < 0,05$ ). Este teor foi neste órgão mais elevado que o encontrado no músculo do peixe-espada-preto (Mann-Whitney's *U*-test;  $p < 0,05$ ) ao passo que as espécies de tamboril não revelaram diferenças estatísticas entre os diferentes tecidos (Mann-Whitney's *U*-test;  $p > 0,05$ ).

Oehlenschläger (1997) refere que, usualmente, a concentração de magnésio é superior à de cálcio nas partes edíveis do peixe o que de facto se verificou também neste trabalho. Por outro lado, segundo Lall, (1995), a concentração de cálcio nas partes edíveis dos peixes é baixa e muito variável o que corrobora não só com os resultados obtidos mas também com os verificados por outros autores (Karakoltsidis *et al.*, 1997; Martínez-Valverde *et al.*, 2000; Jodral-Segado *et al.*, 2003; Carvalho *et al.*, 2005).

De acordo com Varo *et al.* (1992) o teor de Ca varia muito de espécie para espécie enquanto o de magnésio mostra poucas variações entre as espécies, o que está de acordo com os dados obtidos neste trabalho. As variações de Ca, observada nos tecidos analisados de algumas das espécies estudadas, podem ter sido causadas, como já referidos, por inúmeros factores (intrínsecos e extrínsecos) inerentes às espécies. No caso do tecido muscular, podem também dever-se ao facto de algumas das amostras poderem conter vestígios de espinhas.

Podemos constatar então que os teores de Mg estão dentro do intervalo de dados publicados para as mesmas espécies estudadas, enquanto os valores de Ca apresentam algumas diferenças (Tabela 22). Como exemplo temos as raias, que no nosso trabalho a media se centrou em  $144 \pm 57$  mg/kg, valor este semelhante ao reportado por Lall (1995) que indica um intervalo de concentrações entre 90-250 mg/kg, e o valor indicado por INSA (2006) que se centrou em 1610 mg/kg.

**Tabela 22** – Teores de macromelementos (K, Na, Cl, S, Mg e Ca), expressos em mg/kg, referenciados na literatura.

Espécie <sup>#</sup>	K	Na	Cl	S	Mg	Ca	Referência
PEP	3320	1380	-	-	290	140	INSA (2006)
							Bandarra <i>et al.</i> (2004)
PEB	3320	1380	1760	-	290	140	Nunes <i>et al.</i> (2006)
	2111	690	-	-	250	177	Bandarra <i>et al.</i> (2004)
	2520	770	-	-	260	160	INSA (2006)
	2111	690	1090	-	250	177	Nunes <i>et al.</i> (2006)
TA	3330	860	-	-	270	67	INSA (2006)
							Bandarra <i>et al.</i> (2004)
PE	3330	860	1080	-	270	67	Nunes <i>et al.</i> (2006)
	3060	1330	-	-	380	210	Bandarra <i>et al.</i> (2004)
	4080	690	-	-	260	150	INSA (2006)
	4080	690	850	-	260	150	Nunes <i>et al.</i> (2006)
	4460±43 <sup>a</sup>	1240±88 <sup>a</sup>	-	-	367±6,3 <sup>a</sup>	383±137 <sup>a</sup>	Martínez-Valverde <i>et al.</i> (2000)
	3200±48 <sup>b</sup>	1430±107 <sup>b</sup>	-	-	369±21 <sup>b</sup>	256±49 <sup>b</sup>	
Ra	5270±690	-	-	-	200±50	250±50	Karakoltsidis <i>et al.</i> (1995)
	2620	2200	-	-	280	1610	INSA (2006)
							Bandarra <i>et al.</i> (2004)
	2360-3520	1330-1790	-	-	380	90-250	Lall (1995)
	2680-2800	1550-1672	-	-	-	-	Causeret (1962)

#: idêntico à Tabela 6; n-números de espécies diferentes; a – pescada-europeia pequena (27,2-34,1 cm) b – pescada europeia grande (40,1-60,3 cm)

### 3.3.2 Microelementos essenciais

Os microelementos analisados foram o ferro (Fe), zinco (Zn), selênio (Se), cobre (Cu) e manganês (Mn) e as concentrações obtidas para as espécies estudadas encontram-se na Tabela 23 e individualizados no Anexo III (Quadro V).

Na Tabela 24 encontra-se o resultado dos testes estatísticos efectuados para a comparação entre espécies no que respeita aos teores destes macromelementos encontrados no músculo.

#### *Zinco e Cobre*

Atendendo aos resultados obtidos, o teor deste Zn no músculo das espécies de peixe-espada (com uma concentração média de cerca de 3 mg/kg) foi inferior ao encontrado nas duas espécies de tamboril, no areeiro-de-quatro-manchas e nas raías (onde a média variou entre os 4 e 5 mg/kg). Tanto o tamboril como o tamboril-sovaco-preto apresentaram teores de Zn superiores aos da pescada-europeia (gama variou entre 2,7-4,2 mg/kg), tendo esse teor no tamboril também sido estatisticamente superior ao verificado no areeiro (gama variou entre 3,2 e 3,9 mg/kg). Assemelhando-se aos resultados obtidos, Carvalho *et al.* (2005) referem que as espécies que habitam fundos arenosos e lamacentos, como os tamboris, areeiros e raías, apresentam teores mais elevados de Zn.

Por outro lado, Cronin *et al.* (1998) sugere que a concentração de Zn no tecido muscular das diferentes espécies aumenta com a profundidade em que estas vivem, ou seja, os peixes que vivem a profundidades mais elevadas possuem teores de Zn mais elevados. O peixe-espada-preto foi a espécie estudada, comparativamente com as restantes, que atinge profundidades mais altas (atinge os 1800m de profundidade), no entanto, como constado pelos nossos resultados esta não foi a espécie que apresentou os teores mais elevados de Zn.

As concentrações de Zn, publicadas na literatura, para o peixe-espada-preto (Mormede & Davies, 2001), tamboril (Bandarra *et al.*, 2004; INSA, 2006; Nunes *et al.*, 2006), areeiro-de-quatro-manchas (Çelik & Oehlenschläger, 2005), pescada-europeia (Martínez-Valverde *et al.*, 2000; Çelik & Oehlenschläger, 2004) e raias (Lall, 1995) são muito semelhantes às obtidas no presente trabalho (Tabela 25). No entanto, quando comparamos os resultados obtidos por Bandarra *et al.* (2004), INSA (2006) e Nunes *et al.* (2006) estes são, de um modo geral, mais elevados que os obtidos para algumas das espécies estudadas (PEP, PEB, PE e RA).

No fígado, a espécie que apresentou os níveis mais elevados, com um valor médio de  $85 \pm 26$  mg/kg, foi o peixe-espada-preto (Teste Kruskal-Wallis;  $p < 0,05$ ) enquanto que as duas espécies de tamboril não diferiram entre si (Teste Kruskal-Wallis;  $p > 0,05$ ). Num trabalho publicado por Mormede & Davies (2001), os teores obtidos de Zn no fígado de peixe-espada-preto variaram entre 29,42 e 108,7 mg/kg. Os resultados obtidos neste trabalho, apesar de serem da mesma ordem de grandeza, foram ligeiramente superiores, variando entre um mínimo de 54 mg/kg e um máximo de 131 mg/kg.

De acordo com Lall (1995), o fígado contém mais Zn que o músculo. De facto, o fígado do peixe-espada-preto e das espécies de tamboril apresentaram concentrações mais elevadas deste mineral quando comparado com o do tecido muscular (Mann-Whittney's *U*-test;  $p < 0,05$ ). Mormede & Davies (2001), Bustamante *et al.* (2003) e Capelli *et al.* (2008), verificaram também elevadas concentrações de Zn comparativamente ao tecido muscular.

**Tabela 23** – Teor de microelementos, expresso em mg/kg, determinados nos tecidos das espécies estudadas.

Microelementos (mg/kg)										
Espécie <sup>#</sup>	Zn		Cu		Fe		Mn		Se	
Tecido	Músculo	Fígado	Músculo	Fígado	Músculo	Fígado	Músculo	Fígado	Músculo	Fígado
<b>PEP</b>	2,9±0,8 (2,1-5,0)	85±26 (54-131)	0,14±0,04 (0,11-0,24)	14±5,9 (5,8-24)	1,5±0,4 (0,8-2,2)	313±158 (112-536)	0,15±0,01 (0,13-0,17)	2,4±0,3 (2,0-2,8)	0,46±0,13 (0,33-0,81)	3,9±1,0 (2,8-5,8)
<b>PEB</b>	2,8±0,2 (2,4-3,1)	-	0,13±0,04 (0,05-0,18)	-	2,4±0,3 (1,9-2,7)	-	0,25±0,03 (0,21-0,31)	-	0,37±0,11 (0,23-0,57)	-
<b>TA</b>	4,8±0,8 (4,0-5,7)	16±5,3 (9,1-23)	0,24±0,08 (0,16-0,38)	13±12 (3,4-37)	2,0±0,4 (1,5-2,5)	19±5,9 (7,8-24)	0,10±0,05 (0,05-0,17)	<LD	0,28±0,05 (0,21-0,36)	1,2±0,4 (0,71-1,8)
<b>TSP</b>	4,2±0,5 (3,2-4,7)	26±15 (15-48)	0,27±0,07 (0,21-0,39)	47±40 (12-93)	2,2±0,6 (1,5-3,0)	57±50 (21-130)	0,20±0,10 (0,10-0,38)	<LD	0,62±0,16 (0,42-0,90)	1,8±0,8 (0,7-2,7)
<b>ARE</b>	3,4±0,3 (3,2-3,9)	-	0,13±0,03 (0,10-0,18)	-	1,5±0,2 (1,1-1,7)	-	0,07±0,03 (0,04-0,10)	-	0,36±0,09 (0,24-0,47)	-
<b>AQM</b>	3,8±0,6 (3,3-5,3)	-	0,21±0,04 (0,15-0,24)	-	2,5±0,5 (1,9-3,5)	-	0,11±0,04 (0,05-0,16)	-	0,45±0,07 0,39-0,57	-
<b>PE</b>	3,4±0,42 (2,7-4,2)	-	0,31±0,07 (0,21-0,42)	-	3,9±2,9 (1,4-10)	-	0,12±0,10 (0,04-0,30)	-	0,29±0,07 (0,18-0,39)	-
<b>RA</b>	4,0±0,3 (3,5-4,7)	-	0,17±0,05 (0,10-0,25)	-	2,8±0,5 (2,1-3,6)	-	0,24±0,06 (0,15-0,37)	-	0,29±0,08 (0,20-0,45)	-

#: idêntico à Tabela 6; média± desvio padrão; (máximo-mínimo); LD – limite de detecção

**Tabela 24** – Resultados dos testes estatísticos efectuados para a comparação entre espécies (teor de Zn, Fe, Se, Cu e Mn no músculo das espécies estudadas).

Zn (Teste Tukey)								Cu (Teste Kruskal-Wallis)							
	PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE		PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE
PEB <sup>#</sup>	n.s							PEB	n.s.						
TA	***	***						TA	n.s.	n.s.					
TSP	***	***	n.s.					TSP	n.s.	*	n.s.				
ARE	n.s	n.s.	**	n.s.				ARE	n.s.	n.s.	n.s.	*			
AQM	*	**	n.s.	n.s.	n.s.			AQM	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		
PE	n.s.	n.s.	***	*	n.s.	n.s.		PE	***	***	n.s.	n.s.	**	n.s.	
RA	***	***	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	RA	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*
Fe (Teste Kruskal-Wallis)								Mn (Teste Kruskal-Wallis)							
	PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE		PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE
PEB	*							PEB	n.s.						
TA	n.s.	n.s.						TA	n.s.	*					
TSP	n.s.	n.s.	n.s.					TSP	n.s.	n.s.	n.s.				
ARE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.				ARE	n.s.	**	n.s.	n.s.			
AQM	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.			AQM	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		
PE	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		PE	n.s.	**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
RA	***	n.s.	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.	RA	n.s.	n.s.	*	n.s.	**	n.s.	*
Se (Teste Kruskal-Wallis)															
	PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE								
PEB	n.s.														
TA	n.s.	n.s.													
TSP	n.s.	n.s.	**												
ARE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.											
AQM	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.										
PE	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.									
RA	*	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.	n.s.								

#. idêntico à Tabela 6; n.s.- não significativo; \* p< 0,05; \*\* p<0,01; \*\*\*p<0,001

Relativamente aos outros microelementos estudados, o Zn foi o mais abundante no tecido muscular (Tabela 23). Como constituinte de inúmeras enzimas, o Zn é responsável por funções biológicas importantes (De Silva & Anderson, 1995; Oehlenschläger, 1997; McDonald *et al.*, 2002; Çelik & Oehlenschläger, 2004, 2005) que só com concentrações relativamente elevadas, comparativamente aos outros microminerais, podem ser satisfeitas (Oehlenschläger, 1997). Concentrações mais elevadas nos tecidos podem então indicar uma necessidade desse elemento por parte do organismo na manutenção dessas funções metabólicas (Carvalho *et al.* 2005).

O cobre foi detectado, no músculo das espécies estudadas, em concentrações abaixo de 0,5 mg/kg. A pescada-europeia apresentou concentrações de Cu mais elevadas em relação às verificadas nas duas espécies de peixe-espada, no areeiro e raias. Por outro lado, no tamboril-sovaco-preto essa concentração foi mais elevada que no peixe-espada-branco e areeiro. Atendendo aos dados encontrados na literatura para as mesmas espécies estudadas (Mormede & Davies, 2001; Bandarra *et al.*, 2004; Çelik & Oehlenschläger, 2004, 2005; INSA, 2006; Nunes, 2006) verifica-se que os obtidos são semelhantes.

Estatisticamente, o teor em Cu no fígado não revelou diferenças entre as espécies (Teste Kruskal-Wallis;  $p > 0,05$ ), tendo a sua concentração variado entre um mínimo de 3,4 mg/kg (tamboril) e um máximo de 93 mg/kg (tamboril-sovaco-preto).

Bustamante *et al.* (2003) e Capelli *et al.* (2008) verificaram também que os valores obtidos de Cu no fígado são similares entre as espécies. No entanto, tal como verificado no presente estudo, Bustamante *et al.* (2003) refere que dentro da mesma espécie, este metal no fígado apresenta uma grande variabilidade.

Os teores de Cu no fígado do peixe-espada-preto (gama entre 5,8 e 24 mg/kg) e do tamboril (3,4-37 mg/kg) encontravam-se dentro da gama de valores referenciados por Mormede & Davies (2001) para as mesmas espécies (gama entre <1,00-39,05 e 1,45-36,44 mg/kg, respectivamente).

Tal como o Zn, o fígado do peixe-espada-preto e espécies de tamboril, foi o tecido que revelou concentrações mais elevada de Cu quando comparado com o tecido muscular (Mann-Whitney's *U*-test;  $p < 0,05$ ). Consolidando os resultados obtidos, diversos estudos (Hellou *et al.*, 1992; Al-Ghais, 1995; Zauke *et al.*, 1999; Canli *et al.*, 2001; Mormede & Davies, 2001; Carvalho *et al.*, 2002; Bustamante *et al.*, 2003; Agusa *et al.*, 2005; McMeans *et al.*, 2007; Kosanovic *et al.*, 2007; Capelli *et al.*, 2008) indicam também que os teores de Cu são superiores no fígado quando comparado com os do tecido muscular.

Analizados globalmente os resultados obtidos, verificamos que, apesar da variabilidade existentes entre algumas das espécies estudadas, as concentrações de Zn e Cu no músculo não foram além de 5,7 mg/kg (tamboril) e 0,42 mg/kg (pescada-europeia), respectivamente. Por outro lado, tal como o verificado por Capelli *et al.* (2008), de um modo geral, os teores de Cu e Zn no tecido muscular não foram muito oscilantes, considerando a mesma espécie de peixe. Segundo diversos autores (Vas, 1991; Vas *et al.*, 1993; Cronin *et al.*, 1998; Fabris *et al.*, 2006; McMeans *et al.*, 2007), ainda que no ecossistema a concentração de zinco e/ou cobre seja elevada, o que eventualmente poderá conduzir a um excesso deste elemento mineral na dieta alimentar do peixe, tal facto não conduz a fenómenos biomagnificação, uma vez que o seu organismo é capaz de regular a sua absorção e/ou acumulação.

No entanto, o mesmo não se constatou no fígado, visto que a concentração desses elementos variou. Segundo Capelli *et al.* (2008), essas variações de Zn no fígado dentro da mesma espécie são devidas a mecanismos activos de regulação.

### ***Ferro***

Considerando os resultados obtidos na fracção muscular, constata-se que o peixe-espada-preto foi a espécie que apresentou o teor de ferro mais baixo (0,8 mg/kg) e a pescada-europeia o mais elevado (10 mg/kg).

Os níveis de ferro no músculo do peixe-espada-preto ( $1,5 \pm 0,4$  mg/kg) foram mais baixos que os do peixe-espada-branco ( $2,4 \pm 0,3$  mg/kg), pescada-europeia ( $3,9 \pm 2,9$  mg/kg) e raias ( $2,8 \pm 0,5$  mg/kg). O areeiro também apresentou quantidades de Fe mais baixas ( $1,5 \pm 0,2$  mg/kg) que as raias. De acordo com Carvalho *et al.* (2005) as diferenças entre os teores de Fe entre espécies devem-se fundamentalmente à sua dieta alimentar e ao habitat.

Os resultados obtidos são semelhantes aos publicados por outros autores para o peixe-espada-preto, tamboril (Bandarra *et al.*, 2004; INSA, 2006; Nunes *et al.*, 2006), pescada-europeia (Martíniz-Valverde *et al.*, 2000; Bandarra *et al.*, 2004; INSA, 2006; Nunes *et al.*, 2006) e raia (Bandarra *et al.*, 2004; INSA, 2006). No entanto, para o peixe-espada-branco os níveis obtidos foram inferiores aos reportados por Bandarra *et al.* (2004), INSA (2006) e Nunes *et al.* (2006) e os das raias aos descritos por Lall (1995).

Foi verificada alguma variabilidade dos teores de ferro no músculo, dentro da mesma espécie de peixe, principalmente na pescada-europeia em que os valores obtidos oscilaram entre 1,4 e 10 mg/kg. Segundo Martínez-Valverde *et al.* (2000), a quando da preparação das amostras de peixe, não só com fins analíticos como também gastronómicos, é inevitável não existir quantidades residuais de sangue. Esse sangue poderá influenciar os resultados aumentando desta forma os teores detectados de ferro (Martínez-Valverde *et al.*, 2000).

No fígado do peixe-espada-preto apresentou teores de Fe mais elevados ( $313 \pm 158$  mg/kg) que os verificados no tamboril (Teste Kruskal-Wallis;  $p < 0,05$ ).

Comparativamente com o músculo, o fígado do peixe-espada-preto (*T* de Student;  $p < 0,05$ ) e das espécies de tamboril (Mann-Whittney's *U*-test;  $p < 0,05$ ) foi o tecido que apresentou mais ferro. Os resultados reportados por Hellou *et al.* (1992), Canli *et al.* (2001) e Popov *et al.* (2002) corroboram com os obtidos no presente trabalho. O Fe está presente em todas as células dos organismos vivos e desempenha um papel vital em inúmeras reacções bioquímicas. A maior parte deste elemento está presente nos pigmentos da mioglobina e hemoglobina (Belitz *et al.*, 2004). Desta forma,



não é de estranhar a alta concentração de Fe no fígado das espécies estudadas, relativamente ao músculo, visto este ser um órgão altamente vascularizado.

### ***Manganês***

No presente trabalho, a concentração de manganês (Mn) no músculo foi mais elevada no peixe-espada-branco ( $0,25 \pm 0,03$  mg/kg) e na raia ( $0,24 \pm 0,06$  mg/kg) quando comparado com a obtida no tamboril, areeiro e pescada-europeia. Com algumas excepções, os valores obtidos assemelham-se aos publicados noutros trabalhos (Tabela 25).

Por outro lado, tal como o verificado por Capelli *et al.* (2008), de um modo geral, os teores de Mn, no tecido muscular não foram muito variáveis considerando a mesma espécie de peixe.

No fígado do peixe-espada-preto foram detectadas concentrações mais elevadas que no tecido muscular (*T* de Student;  $p < 0,05$ ). Nas espécies de tamboril o teor deste elemento foi inferior ao limite de detecção (4 mg/kg peso seco). Diversos autores também observaram teores de Mn maiores no fígado comparativamente com o músculo (Al-Ghais, 1995; Carvalho *et al.*, 2002; Popov *et al.*, 2002; McMeans *et al.*, 2007; Agusa *et al.*, 2005; Kosanovic *et al.*, 2007; Capelli *et al.*, 2008).

Contrariamente ao verificado no Cu e Zn, as concentrações de Mn no fígado não apresentaram grandes variações dentro da mesma espécie. Este facto foi também constatado por Capelli *et al.* (2008).

### ***Selénio***

A concentração de selénio variou no tecido muscular entre 0,18 mg/kg (pescada-europeia) e 0,90 mg/kg (tamboril-sovaco-preto). Resultados semelhantes foram verificados por outros autores (Lall, 1995; Cabañero *et al.*, 2004; Burger & Goochfeld, 2005; Fabris *et al.*, 2006; Sivaperumal *et al.*, 2007).

Os níveis de Se observados na pescada-europeia e raias (ambos com um valor médio de 0,29 mg/kg) foram mais baixos que os verificados no peixe-espada-preto ( $0,46 \pm 0,13$  mg/kg) e tamboril-sovaco-preto ( $0,62 \pm 0,16$  mg/kg). De salientar a diferença obtida nas espécies de tamboril, onde se verificou que o tamboril-sovaco-preto apresentou valores mais elevados que o tamboril ( $0,28 \pm 0,05$  mg/kg).

De um modo geral, os teores de Se não variaram muito entre espécies (Oehlenschläger; 1997; Shen *et al.*, 1997; Plessi *et al.*, 2001; Carvalho *et al.*, 2005; Fabris *et al.*, 2006). No entanto, dentro da mesma espécie de peixe, apresentam variações consideráveis (Oehlenschläger, 1997; Plessi *et al.*, 2001; Carvalho *et al.*, 2005) provavelmente não só devido a factores ambientais mas também a determinadas características das espécies (tamanho do exemplar, zona onde se alimentam, etc.).

A concentração de Se obtida no tecido muscular das raias é semelhante à publicada por Lall, (1995). No entanto, os níveis verificados no peixe-espada-preto e tamboril são superiores aos publicados por Cabañero *et al.* (2004) e Plessi *et al.* (2001), respectivamente, e na pescada-europeia inferiores aos referidos por Plessi *et al.* (2001) (Tabela 25).

O peixe-espada-preto foi a espécie que apresentou no fígado a media de selénio mais elevada ( $3,9 \pm 1,0$  mg/kg) (Teste Kruskal-Wallis;  $p < 0,05$ ) e, contrariamente ao verificado no tecido muscular, as espécies de tamboril não apresentaram teores diferentes deste elemento (Teste Kruskal-Wallis;  $p > 0,05$ ).

Tal como o descrito por outros autores (Agusa *et al.*, 2005; Capelli *et al.*, 2008), no presente trabalho, o fígado apresentou teores de Se mais elevados que os verificados no músculo (Mann-Whittney's *U*-test;  $p < 0,05$ ).

**Tabela 25** – Teores de microelementos (Zn, Cu, Fe, Mn e Se), expressos em mg/kg, referenciados na literatura.

Espécie <sup>#</sup>	Zn	Cu	Fe	Mn	Se	Referência
PEP	5	-	1	-	-	INSA (2006)
	5	<0,3	1	<0,2	-	Nunes <i>et al.</i> (2006) Bandarra <i>et al.</i> (2004)
	-	-	-	-	0,25±0,02	Cabañero <i>et al.</i> (2004)
	2,12-3,90	0,07-0,27	-	-	-	Mormede & Davies (2001)
	29,42-108,7 <sup>fig</sup>	<1,00-39,05 <sup>fig</sup>	-	-	-	Mormede & Davies (2001)
PEB	6	-	4	-	-	INSA (2006)
	6	<0,3	4	<0,2	-	Nunes <i>et al.</i> (2006)
	5	<0,3	5	<0,2	-	Bandarra <i>et al.</i> (2004)
TA	5	-	2	-	-	INSA (2006)
	5	0,3	2	<0,2	-	Nunes <i>et al.</i> (2006) Bandarra <i>et al.</i> (2004)
	2,6-3,3	0,10-0,29	-	-	-	Çelik & Oehlenschläger (2004)
	-	-	-	-	0,173	Plessi <i>et al.</i> (2001)
	-	0,06-0,22	-	-	-	Mormede & Davies (2001)
	-	1,45-36,44 <sup>fig</sup>	-	-	-	Mormede & Davies (2001)
	2,1-2,9	0,13-0,47	-	-	-	Çelik & Oehlenschläger (2004)
AQM	3,38-3,50	0,12-0,17	-	-	-	Çelik & Oehlenschläger (2005)
PE	7	-	5	-	-	INSA (2006)
	7	<0,3	5	<0,2	-	Nunes <i>et al.</i> (2006)
	5	<0,3	2	<0,2	-	Bandarra <i>et al.</i> (2004)
	7,0±0,8 <sup>a</sup> 4,1±0,4 <sup>b</sup>	0,4±0,2 <sup>a</sup> 0,7±0,2 <sup>b</sup>	3,3±0,4 <sup>a</sup> 5,1±0,7 <sup>b</sup>	-	-	Martínez-Valverde <i>et al.</i> (2000)
	2,9-3,67	0,13-0,61	-	-	-	Çelik & Oehlenschläger (2004; 2005)
	-	-	-	-	0,466	Plessi <i>et al.</i> (2001)
	-	0,16-0,53	-	-	-	Mormede & Davies (2001)
	8	-	3	-	-	INSA (2006) Bandarra <i>et al.</i> (2004)
Ra	3,0	0,6-3,5	5,0-61,5	0,5	0,3	Lall (1995)

#: idêntico à Tabela 6; n-números de espécies diferentes; fig-figado; a – pescada-europeia pequena (27,2-34,1cm); b – pescada europeia grande (40,1-60,3cm)

### 3.3.3 Elementos essenciais e os dados biométricos

Como já foi referido, as espécies encontram-se em equilíbrio com o meio ambiente e, na medida em que a maioria desses elementos é necessária metabolicamente, as concentrações podem ser activamente reguladas pelo organismo dos peixes. Por outro lado, a concentração de cada elemento nas espécies pode ser influenciada por parâmetros como o comprimento e peso (entre outros).

Atendendo a esse facto, no presente trabalho, foram efectuadas correlações entre os dados biométricos e o teor dos vários elementos essenciais nos tecidos das espécies estudadas (Tabela 26).

Nas duas espécies de tamboril, no areeiro e raias pode-se constatar que não existem quaisquer correlações entre os teores dos elementos essenciais estudados, quer no músculo ou fígado, e os dados biométricos ( $p > 0,05$ ).

Por outro lado, no tecido muscular das restantes espécies estudadas (PEP, PEB, AQM e PE), não foram também encontradas correlações significativas entre os teores de K, S, Mg, Mn e Se e o comprimento dos peixes e com os teores de K, S, Mg e Zn e o peso.

Num estudo efectuado em diversas espécies de peixe, os autores (Grag & Ramakrishna, 2006) verificaram que a maioria das espécies estudadas não apresentou correlações entre o tamanho dos exemplares e o teor de alguns elementos (entre eles o K, Na, Cl, Cu, Fe, Zn e Mn). McMeans *et al.* (2007), em espécies de tubarões (elasmobrânquios), não verificou quaisquer correlações entre o comprimento/idade e os teores de Cu, Mn, Se e Zn no músculo. Este facto, segundo os autores, pode indicar que não existem alterações nas necessidades destas espécies ao longo do seu desenvolvimento.

No entanto, tal como revela a Tabela 26, foram verificadas algumas correlações significativas e, de um modo geral, verifica-se que estas foram negativas. Desta forma, estes resultados indicam que, à medida que o peixe aumenta o comprimento e/ou peso o teor desses minerais diminui. Diversos autores referem a ocorrência de correlações negativas entre o teor de alguns minerais e o comprimento (Vas *et al.*, 1993; Corin *et al.*, 1998; Farkas *et al.*, 2003; Fabris *et al.*, 2006; McMeans *et al.*, 2007) sugerindo que estes elementos podem ser necessários em maiores concentrações quando se trata de peixes em via de desenvolvimento (McMeans *et al.*, 2007) ou devido a alterações dos seus hábitos alimentares (Farkas *et al.*, 2003).

Este facto poderá ser indicativo, segundo Vas *et al.* (1993), de que estas variações possam representar, nestas espécies, alterações ontológicas na dieta (aumento da predação, pelos peixes maiores, por peixes com concentrações mais reduzidas desse elemento) ou que os peixes mais velhos sejam capazes de regular melhor a absorção e eliminação desses elementos.

Das correlações significativas obtidas é de salientar as ocorridas no peixe-espada-branco. Nesta espécie verificou-se uma diminuição da concentrações de alguns macroelementos no músculo (Na, Cl e Ca) com comprimento e peso, tendo esta presumivelmente sido a causa, como já discutido, da diminuição do teor total dos minerais (cinzas).

No fígado apenas se verificou correlações significativas entre o teor de Fe com os dados biométricos e com o de Se e o peso tendo estas sido sempre positivas. Agusa *et al.* (2005) verificou também correlações positivas entre o teor de diversos elementos no fígado e o comprimento do peixe.

**Tabela 26** – Correlações significativas entre os teores de macro e microelementos no músculo e fígado e os dados biométricos das espécies estudadas.

		PEP <sup>#</sup>	PEB	AQM	PE
<b>Comprimento versus</b>	Tecido				
<b>Na</b>	Músculo	n.s.	r= -0,829 p=0,003	n.s.	n.s.
<b>Cl</b>	Músculo	n.s.	r= -0,703 p=0,023	r= -0,812 p=0,027	r= -0,749 p=0,013
<b>Ca</b>	Músculo	n.s.	r= -0,689 p=0,027	n.s.	n.s.
<b>Zn</b>	Músculo	n.s.	n.s.	n.s.	r= -0,643 p=0,045
<b>Cu</b>	Músculo	n.s.	n.s.	r= -0,971 p=0,006	
<b>Fe</b>	Músculo	n.s.	n.s.	n.s.	r= -0,893 p=<0,0001
	Fígado	r= 0,908 p=0,001	-	-	-
<b>Peso versus</b>					
<b>Na</b>	Músculo	n.s.	r= -0,839 p=0,002	n.s.	n.s.
<b>Cl</b>	Músculo	n.s.	r= -0,705 p=0,023	r= -0,896 p=0,006	r= -0,697 p=0,025
<b>Ca</b>	Músculo	n.s.	r= -0,655 p=0,040	n.s.	n.s.
<b>Cu</b>	Músculo	n.s.	n.s.	r= -0,972 p=0,006	n.s.
<b>Fe</b>	Músculo	n.s.	n.s.	n.s.	r= -0,813 p=0,004
	Fígado	r= 0,788 p=0,012	n.s.	n.s.	n.s.
<b>Mn</b>	Músculo	n.s.	n.s.	n.s.	r= -0,772 p=0,009
<b>Se</b>	Músculo	r= 0,762 p=0,01	n.s.	n.s.	n.s.
	Fígado	r= 0,924 p<0,0001	n.s.	n.s.	n.s.

#: idêntico à Tabela 6; n.s. – não significativo

### 3.3.4 Contribuição nutricional das espécies no que respeita ao teor de macro e microelementos

Atendendo às doses de ingestão alimentar de referência (DRI), publicadas pelo IOM (2005), foi calculada a contribuição nutricional que a parte edível das espécies estudadas proporciona em termos de macro e microelementos. Os DRI dizem respeito a um conjunto de quatro valores de referência: RDA (ingestão alimentar recomendada), AI (ingestão adequada), EAR (necessidade média estimada) e UL (nível máximo de ingestão tolerável). Tanto os RDA como os AI, para os macro e microelementos, são dados em concentração por dia e, desta forma, estes valores serão referidos como doses diárias recomendadas (DDR).

A dose diária estimada (DDE) de ingestão de cada elemento foi calculada utilizando o teor médio (mg/kg) obtido para cada espécie, e considerando uma refeição de 160 e 60 g, respectivamente para o músculo e fígado.

A contribuição nutricional de cada espécie, em termos de macro e microelementos, foi estimada com base no cálculo da percentagem da dose diária recomendada (DDR %) atingida, tendo em conta os níveis recomendados (IOM, 2005). Para este cálculo foram consideradas as DDR para adultos, dados pelos respectivos RDA ou IA, e os valores obtidos no cálculo da DDE (expressa em mg de elemento por 160 g de músculo ou 60 g de fígado).

As Tabelas 27, 28, 29 e 30 mostram a contribuição nutricional dada pelas diferentes espécies estudadas em termos de macro e microelementos em relação às DDR.

No que diz respeito ao potássio, o peixe-espada-branco é a espécie que pode fornecer a percentagem mais elevada (12,4 %), dos níveis diários requeridos. Em relação ao sódio esse valor foi obtido pela pescada-europeia (29,2 %) e para o cloro pelo areeiro-de-quatro-manchas e raias (13,7 %). Pode verificar-se ainda que todas as espécies são uma boa fonte de enxofre, contendo o músculo das raias e areeiro-de-quatro-manchas cerca de 40 e 36 %, respectivamente. Para o magnésio e cálcio destaca-se a contribuição dada pelo areeiro-de-quatro-manchas com 22,5 e 6,2 %, respectivamente.

Observando os resultados, obtidos para os microelementos, constata-se que as espécies estudadas são uma boa fonte de selénio, tendo a DDR sido atingida ou superada no peixe-espada-preto (134,7 %), peixe-espada-branco (108,8 %), tamboril-sovaco-preto (180,4 %), areeiro (104,5 %) e areeiro-de-quatro-manchas (130,2 %). Por

outro lado, apesar de os valores terem excedido as DDR eles não representam um risco para a saúde humana visto estarem muito longe de exceder o nível máximo de ingestão tolerável (UL=0,400 mg por dia) referidos pelo IOM (2005).

O tamboril é a espécie que pode fornecer a maior percentagem de zinco (9,6 %), a pescada-europeia é a que proporciona maiores percentagens de cobre e ferro (5,5 e 7,8 %, respectivamente) enquanto a melhor fonte de manganês e o peixe-espada-branco (2,2 %).

Em resumo, de um modo geral as espécies estudadas podem ser consideradas uma boa fonte de selénio, enquanto a contribuição dos restantes elementos asseguram uma percentagem relevante da dose diária recomendada numa dieta alimentar equilibrada.

**Tabela 27** – Contribuição nutricional das espécies de peixe-espada-preto e peixe-espada-branco em termos de macro e microelementos essenciais, para um adulto e através do consumo de uma refeição de 160 g de músculo.

<i>Elemento</i>	DDR (mg/dia)	<i>Peixe-espada-preto</i>			<i>Peixe-espada-branco</i>		
		Teor (mg/kg)	DDE (mg/160 g)	DDR (%)	Teor (mg/kg)	DDE (mg/160 g)	DDR (%)
<b>K</b>	<b>4700*</b>	2966	474,5	10,1	3638	582	12,4
<b>Na</b>	<b>1200-1500*</b>	1569	251,0	20,9	929	149	12,4
<b>Cl</b>	<b>1800-2300*</b>	1218	194,8	10,8	1131	181	10,1
<b>S</b>	<b>800-1000*<sup>a</sup></b>	1242	198,7	24,8	1289	206	25,8
<b>Mg</b>	<b>310-420**</b>	280	44,8	14,4	248	40	12,8
<b>Ca</b>	<b>1000-1200*</b>	119	19,0	1,9	82	13,2	1,3
<b>Zn</b>	<b>8-11**</b>	2,93	0,47	5,8	2,79	0,45	5,6
<b>Cu</b>	<b>0,90**</b>	0,14	0,02	2,4	0,13	0,02	2,3
<b>Fe</b>	<b>8-18**</b>	1,50	0,24	3,0	2,38	0,38	4,8
<b>Mn</b>	<b>1,8-2.3*</b>	0,15	0,02	1,3	0,25	0,04	2,2
<b>Se</b>	<b>0,055**</b>	0,46	0,07	134,7	0,37	0,06	108,8

DDR (bold) – dose diária recomendada utilizada nos cálculos da DDR (%); \*AI – Ingestão adequada \*\* RDA – Ingestão alimentar recomendada; a - Belitz *et al.* (2004); DDE – dose diária estimada

**Tabela 28** – Contribuição nutricional das espécies de tamboril e tamboril-sovaco-preto em termos de macro e microelementos essenciais, para um adulto e através do consumo de uma refeição de 160 g de músculo.

<i>Elemento</i>	DDR (mg/dia)	<i>Tamboril</i>			<i>Tamboril-sovaco-preto</i>		
		Teor (mg/kg)	DDE (mg/160 g)	DDR (%)	Teor (mg/kg)	DDE (mg/160 g)	DDR (%)
<b>K</b>	<b>4700*</b>	2566	411	8,7	2975	476	10,1
<b>Na</b>	<b>1200-1500*</b>	1961	314	26,1	1648	264	22,0
<b>Cl</b>	<b>1800-2300*</b>	1195	191	10,6	1214	194	10,8
<b>S</b>	<b>800-1000*<sup>a</sup></b>	1220	195	24,4	1378	221	27,6
<b>Mg</b>	<b>310-420**</b>	263	42	13,6	273	44	14,1
<b>Ca</b>	<b>1000-1200*</b>	93	14,8	1,5	98	15,7	1,6
<b>Zn</b>	<b>8-11**</b>	4,8	0,77	9,6	4,2	0,66	8,3
<b>Cu</b>	<b>0,90**</b>	0,24	0,04	4,3	0,27	0,04	4,9
<b>Fe</b>	<b>8-18**</b>	1,97	0,32	3,9	2,16	0,35	4,3
<b>Mn</b>	<b>1,8-2.3*</b>	0,10	0,02	0,9	0,20	0,03	1,8
<b>Se</b>	<b>0,055**</b>	0,28	0,04	81,6	0,62	0,10	180,4

DDR (bold) – dose diária recomendada utilizada nos cálculos da DDR (%); \*AI – Ingestão adequada \*\* RDA – Ingestão alimentar recomendada; a - Belitz *et al.* (2004); DDE – dose diária estimada

**Tabela 29** – Contribuição nutricional das espécies de areeiro e areeiro-de-quatro-manchas em termos de macro e microelementos essenciais, para um adulto e através do consumo de uma refeição de 160 g de músculo.

<i>Elemento</i>	DDR (mg/dia)	<i>Areeiro</i>			<i>Areeiro-de-quatro-manchas</i>		
		Teor (mg/kg)	DDE (mg/160 g)	DDR (%)	Teor (mg/kg)	DDE (mg/160 g)	DDR (%)
<b>K</b>	<b>4700*</b>	2768	443	9,4	2684	429	9,1
<b>Na</b>	<b>1200-1500*</b>	1548	248	20,6	2018	323	26,9
<b>Cl</b>	<b>1800-2300*</b>	1129	181	10,0	1546	247	13,7
<b>S</b>	<b>800-1000*<sup>a</sup></b>	1521	243	30,4	1803	288	36,1
<b>Mg</b>	<b>310-420**</b>	375	60	19,4	436	70	22,5
<b>Ca</b>	<b>1000-1200*</b>	142	23	2,3	388	62	6,2
<b>Zn</b>	<b>8-11**</b>	3,4	0,55	6,8	3,8	0,61	7,7
<b>Cu</b>	<b>0,90**</b>	0,13	0,02	2,3	0,21	0,03	3,7
<b>Fe</b>	<b>8-18**</b>	1,45	0,23	2,9	2,50	0,40	5,0
<b>Mn</b>	<b>1,8-2.3*</b>	0,07	0,01	0,6	0,11	0,02	1,0
<b>Se</b>	<b>0,055**</b>	0,36	0,06	104,5	0,45	0,07	130,2

DDR (bold) – dose diária recomendada utilizada nos cálculos da DDR (%); \*AI – Ingestão adequada \*\* RDA – Ingestão alimentar recomendada; a - Belitz *et al.* (2004); DDE – dose diária estimada



**Tabela 30** – Contribuição nutricional das espécies de pescada-europeia e raias em termos de macro e microelementos essenciais, para um adulto e através do consumo de uma refeição de 160 g de músculo.

<i>Elemento</i>	DDR (mg/dia)	<i>Pescada-europeia</i>			<i>Raias</i>		
		Teor (mg/kg)	DDE (mg/160 g)	DDR (%)	Teor (mg/kg)	DDE (mg/160 g)	DDR (%)
<i>K</i>	<b>4700*</b>	3511	562	12,0	3261	522	11,1
<i>Na</i>	<b>1200-1500*</b>	2187	350	29,2	1295	207	17,3
<i>Cl</i>	<b>1800-2300*</b>	1333	213	11,9	1541	247	13,7
<i>S</i>	<b>800-1000*</b> <sup>a</sup>	1463	234	29,3	2005	321	40,1
<i>Mg</i>	<b>310-420**</b>	366	59	18,9	266	43	13,7
<i>Ca</i>	<b>1000-1200*</b>	215	34	3,4	144	23	2,3
<i>Zn</i>	<b>8-11**</b>	3,4	0,54	6,7	4,0	0,64	8,0
<i>Cu</i>	<b>0,90**</b>	0,31	0,05	5,5	0,17	0,03	3,0
<i>Fe</i>	<b>8-18**</b>	3,9	0,62	7,8	2,8	0,45	5,7
<i>Mn</i>	<b>1,8-2.3*</b>	0,12	0,02	1,0	0,24	0,04	2,1
<i>Se</i>	<b>0,055**</b>	0,29	0,05	83,9	0,29	0,05	84,0

DDR (bold) – dose diária recomendada utilizada nos cálculos da DDR (%); \*AI – Ingestão adequada \*\* RDA – Ingestão alimentar recomendada; a - Belitz *et al.* (2004); DDE – dose diária estimada

O fígado das espécies estudadas é, de um modo geral, uma boa fonte de zinco, cobre, ferro e selênio (Tabela 31). No entanto, no caso do peixe-espada-preto o consumo deste órgão não deve exceder as 60 g, na medida em que o teor de selênio pode exceder o UL (0,400 mg por dia) referido pelo IOM (2005).

**Tabela 31** – Contribuição nutricional das espécies estudadas em termos de macro e microelementos essenciais, para um adulto e através do consumo de uma refeição de 60 g de fígado.

<i>Elemento</i>	DDR (mg/dia)	UL (mg/dia)	<i>PEP</i> <sup>#</sup>		<i>TA</i>		<i>TSP</i>	
			Teor (mg/kg)	DDR (%)	Teor (mg/kg)	DDR (%)	Teor (mg/kg)	DDR (%)
<i>K</i>	<b>4700*</b>	ND	2421	8,2	1169	4,0	1111	3,8
<i>Cl</i>	<b>1800-2300*</b>	3600	2870	25,5	1207	10,7	1648	14,6
<i>S</i>	<b>800-1000*</b> <sup>a</sup>	-	2167	43,3	-	ND	-	ND
<i>Ca</i>	<b>1000-1200*</b>	2500	275	4,4	89	1,4	104	1,7
<i>Zn</i>	<b>8-11**</b>	40	85	169,6	16	32,6	26	52,7
<i>Cu</i>	<b>0,90**</b>	10	13,7	242,9	12,8	227,7	47,0	835,3
<i>Fe</i>	<b>8-18**</b>	45	313	625,7	19	37,9	57	113,7
<i>Mn</i>	<b>1,8-2.3*</b>	11	2,4	21,1	-	ND	-	ND
<i>Se</i>	<b>0,055**</b>	0,40	3,9	1121,8	1,2	343,6	1,7	514,8

#: idêntico à Tabela 6; DDR (bold) – dose diária recomendada utilizada nos cálculos da DDR (%); \*AI – Ingestão adequada; \*\* RDA – Ingestão alimentar recomendada; a - Belitz *et al.* (2004); UL - nível máximo de ingestão tolerável; ND – não determinada

### 3.4 Elementos tóxicos

O pescado apresenta inúmeros benefícios, no entanto, pode também apresentar, na parte edível, níveis de elementos contaminantes, como o mercúrio (Hg), cádmio (Cd), chumbo (Pb) e arsénio (As), para os quais não se conhece nenhuma função essencial no Homem e devido à sua toxicidade são considerados perigosos.

Desta forma, conhecer os níveis destes elementos no peixe é de enorme interesse devido aos efeitos tóxicos que podem provocar aos organismos que os consomem, incluindo o Homem (Burger & Gochfeld, 2005).

Tendo em conta a crescente preocupação com os níveis de metais contaminantes na parte edível do peixe, principalmente a que é usualmente consumida, torna-se essencial a sua quantificação de modo a que se possa avaliar o risco de exposição das populações a esses metais.

Nesse sentido, para além do tecido muscular, o teor de elementos tóxicos foi também determinado no fígado de algumas das espécies na medida em que este órgão, no qual se podem acumular algumas substâncias tóxicas (Storelli *et al.*, 2005<sup>a</sup>), poder ser consumido pela população portuguesa.

#### 3.4.1 Mercúrio

##### 3.4.1.1 Mercúrio total, orgânico e inorgânico

Na literatura, são inúmeros os autores que referem a acumulação de mercúrio em organismos marinhos (Plessi *et al.*, 2001; Storelli *et al.*, 2003; Burger & Gochfeld, 2005; Carvalho *et al.*, 2005; Storelli *et al.*, 2005<sup>a,b</sup>; Eisler, 2006; Amlund *et al.*, 2007; Magalhães *et al.*, 2007; Balshaw *et al.*, 2008; Hajeb *et al.*, 2009).

No presente trabalho, o teor de mercúrio total foi determinado no músculo de todas as espécies estudadas e no fígado do peixe-espada-preto, tamboril, tamboril-sovaco-preto e raias. Os resultados individuais obtidos, para cada espécie, encontram-se no Anexo III (Quadro VI).

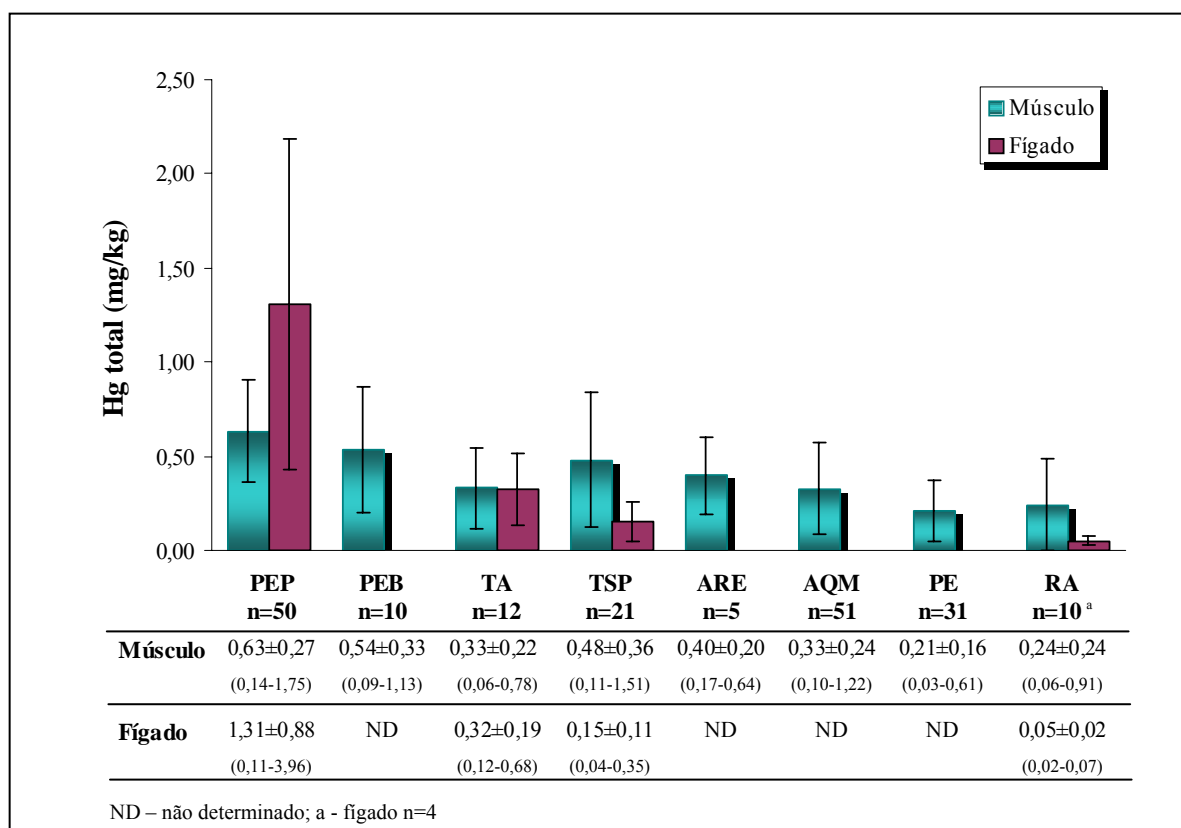
Considerando todas as espécies e indivíduos analisados, o teor deste contaminante variou entre 0,03 (pescada-europeia) e 1,75 mg/kg (peixe-espada-preto) no músculo e 0,04 (tamboril-sovaco-preto) e 3,96 mg/kg (peixe-espada-preto) no fígado (Figura 21).

A partir da Figura 21 e da análise estatística efectuada (Tabela 32), pode-se constatar que existe uma considerável variabilidade, no que respeita ao teor deste metal, entre as espécies. Assim, o tecido muscular do peixe-espada-preto destacou-se por ter

apresentado concentrações mais elevadas de mercúrio total ( $0,63\pm0,27$  mg/kg) comparativamente com o tamboril ( $0,33\pm0,22$  mg/kg), areeiro-de-quatro-manchas ( $0,33\pm0,24$  mg/kg), pescada-europeia ( $0,21\pm0,16$  mg/kg) e raias ( $0,24\pm0,24$  mg/kg). Por outro lado, o peixe-espada-branco ( $0,54\pm0,33$  mg/kg) e o tamboril-sovaco-preto ( $0,48\pm0,36$  mg/kg) apresentaram teores mais elevados do que a pescada-europeia.

A variabilidade dos níveis de mercúrio entre diferentes espécies está associada ao processo de absorção *versus* metabolização deste metal por parte do peixe e da influência de inúmeros outros factores quer bióticos quer abióticos (Storelli *et al.*, 2005<sup>b</sup>; Eisler, 2006; Storelli, 2008) que serão discutidos mais à frente neste trabalho.

No que respeita ao teor de mercúrio total doseado no fígado, verifica-se que, entre as diferentes espécies estudadas, o peixe-espada-preto apresentou o valor mais elevado (Teste Kruskal-Wallis;  $p<0,05$ ), tendo a concentração média sido de  $1,31\pm0,88$  mg/kg. Esta concentração foi de  $0,32\pm0,19$  mg/kg no tamboril,  $0,15\pm0,11$  mg/kg no tamboril-sovaco-preto e  $0,05\pm0,02$  mg/kg nas raias.



**Figura 21** – Teor de mercúrio total, expresso em mg/kg (média±desvio padrão), determinado nos tecidos das espécies estudadas.

**Tabela 32** – Resultado do teste estatístico efectuado para a comparação entre espécies (Hg total no músculo das espécies estudadas).

Hg total músculo (Teste Kruskal-Wallis)							
	PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE
PEB <sup>#</sup>	n.s.						
TA	*	n.s.					
TSP	n.s.	n.s.	n.s.				
ARE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.			
AQM	***	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		
PE	***	*	n.s.	*	n.s.	n.s.	
RA	***	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

#: idêntico à Tabela 6; n.s.- não significativo; \* p< 0,05; \*\* p<0,01; \*\*\*p<0,001

Comparando os teores de mercúrio total obtidos no músculo e no fígado apenas o tamboril não revelou diferenças (*T* de Student;  $p>0,05$ ) entre os tecidos. No caso do tamboril-sovaco-preto e raias o nível deste metal foi mais baixo no fígado (Mann-Whittney's *U*-test;  $p<0,05$ ), enquanto que o peixe-espada-preto exibiu valores mais elevados neste tecido (Mann-Whittney's *U*-test;  $p<0,05$ ).

Diversos autores referem níveis de mercúrio total mais elevado no fígado comparativamente ao músculo (Storelli *et al.*, 2005<sup>a</sup>; Afonso *et al.*, 2007; Bebianno *et al.*, 2007). No entanto, não é de estranhar que o oposto ocorra, na medida em que o fígado é um órgão metabolicamente activo onde os diversos metais tendem primariamente a concentrar-se e só depois a serem metabolizados e excretados (Storelli *et al.*, 2005<sup>a</sup>).

Assim, de modo semelhante aos resultados obtidos, também num estudo efectuado em tubarões (*Prionace glauca*) e espadarte (*Xiphias gladius*), Branco *et al.* (2007) verificaram que, contrariamente ao espadarte, os tubarões apresentaram teores mais baixos de mercúrio total no fígado que o verificado no músculo.

A especiação do mercúrio é de extrema importância, na medida em que se sabe que este metal, presente nos organismos, se encontra sob a forma orgânica e inorgânica (Plessi *et al.*, 2001) e que o seu efeito tóxico e comportamento metabólico estão dependentes da sua forma química (Storelli *et al.*, 2003).

Os resultados obtidos, após especiação do mercúrio, encontram-se na Tabela 33 e no Anexo III (Quadro VI). Pode observar-se que, no tecido muscular, as concentrações de mercúrio orgânico oscilaram entre 0,05 mg/kg (pescada-europeia e raias) e 1,17 mg/kg (peixe-espada-preto) e o mercúrio inorgânico entre <0,001 mg/kg e 0,22 mg/kg, respectivamente, no areeiro-de-quatro-manchas e peixe-espada-branco.

Da análise estatística dos dados, verifica-se que não existem diferenças significativas entre as espécies no que diz respeito ao teor de mercúrio orgânico e inorgânico no músculo (Teste Kruskal-Wallis;  $p>0,05$ ).

Em relação ao fígado, a concentração de mercúrio orgânico oscilou entre 0,03 e 1,18 mg/kg, respectivamente, no tamboril-sovaco-preto e peixe-espada-preto, e o inorgânico entre 0,01 e 2,41 mg/kg, respectivamente, nas espécies de tamboril e peixe-espada-preto. O peixe-espada-preto apresentou o teor mais elevado de mercúrio inorgânico (Teste Kruskal-Wallis,  $p<0,05$ ) enquanto que para o orgânico não foram verificadas diferenças estatísticas entre as espécies (Teste Kruskal-Wallis;  $p>0,05$ ).

**Tabela 33** – Teor de mercúrio orgânico e inorgânico, expresso em mg/kg, determinado nos tecidos das espécies estudadas.

Espécie <sup>#</sup> Tecido	HgOrg Músculo	HgInorg Músculo	HgOrg Fígado	HgInorg Fígado
<b>PEP (n=10)</b>	0,51±0,31 (0,13-1,17)	0,05±0,04 (0,004-0,11)	0,35±0,42 (0,04-1,18)	0,67±0,81 (0,07-2,41)
<b>PEB (n=10)</b>	0,46±0,29 (0,08-0,93)	0,07±0,06 (0,01-0,22)	ND	ND
<b>TA (n=6)</b>	0,21±0,18 (0,06-0,54)	0,03±0,02 (0,01-0,07)	0,16±0,05 (0,11-0,24)	0,03±0,02 (0,01-0,07)
<b>TSP (n=6)<sup>a</sup></b>	0,63±0,54 (0,13-1,43)	0,05±0,02 (0,03-0,08)	0,10±0,09 (0,03-0,21)	0,05±0,04 (0,01-0,08)
<b>ARE (n=5)</b>	0,36±0,18 (0,15-0,59)	0,04±0,02 (0,02-0,06)	ND	ND
<b>AQM (n=8)</b>	0,42±0,27 (0,08-0,77)	0,04±0,07 ( $<0,001$ -0,17)	ND	ND
<b>PE (n=10)</b>	0,23±0,19 (0,05-0,60)	0,02±0,02 (0,004-0,05)	ND	ND
<b>RA (n=9)</b>	0,21±0,22 (0,05-0,79)	0,04±0,03 (0,02-0,05)	ND	ND

#: idêntico à Tabela 6; ND – não determinado; (média±desvio padrão); (máximo - mínimo) a-n=4 no fígado

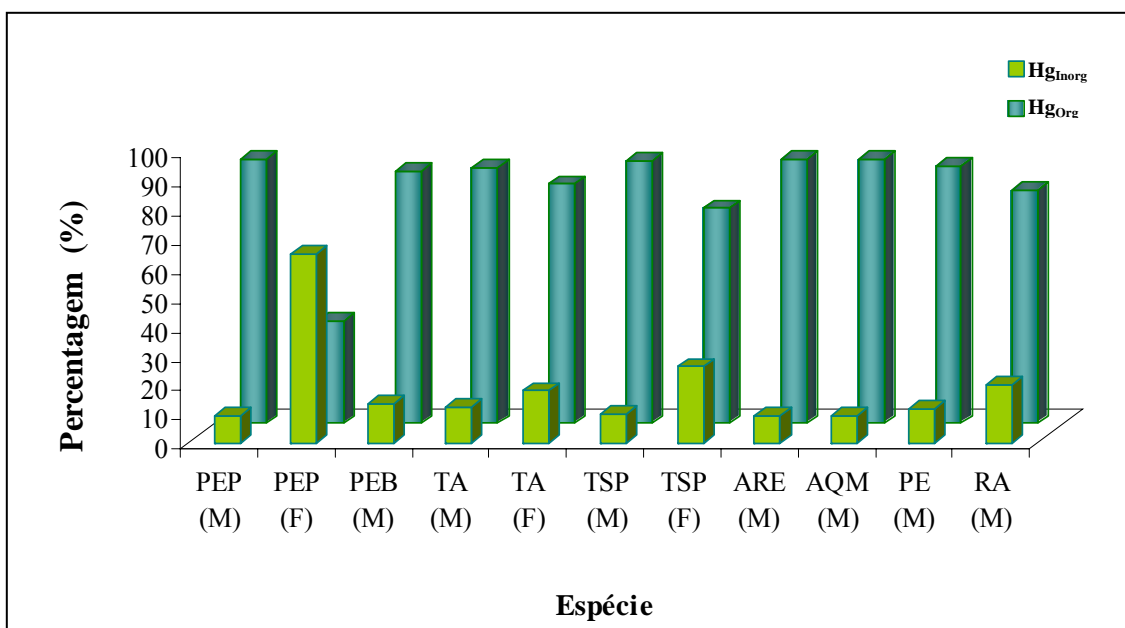
Convertendo os resultados obtidos em percentagem, verifica-se que o teor médio de mercúrio orgânico encontrado nas espécies de peixes estudadas rondou, em regra, os 90 %, encontrando-se o restante sob a sua forma inorgânica (Figura 22). Assim, a maioria do mercúrio encontrado no músculo encontra-se sob a forma orgânica enquanto o mercúrio inorgânico apenas contribui para uma diminuta quantidade do mercúrio total existente, cerca de 10 %.

De facto, é aceite que a maioria do mercúrio encontrado no músculo do peixe se encontra sob a forma orgânica (Andersen & Depledge, 1997; Baeyens *et al.*, 2003;

Storelli *et al.*, 2003; Cabañero *et al.*, 2004; Storelli *et al.*, 2005<sup>b</sup>; Burger & Gochfeld, 2005; Eisler, 2006; Amlund *et al.*, 2007; Branco *et al.*, 2007; Magalhães *et al.*, 2007).

Observando globalmente os resultados, constata-se que, dentro da mesma espécie existe alguma oscilação na percentagem de mercúrio orgânico, tendo por exemplo o areeiro-de-quatro-manchas apresentado valores que se situaram entre os 74 e 100 %. No entanto, comparando as percentagens obtidas entre as espécies estudadas, apenas o peixe-espada-preto apresentou um valor de mercúrio orgânico no tecido muscular mais elevado ( $91 \pm 5$  %) que o obtido para a raia ( $80 \pm 5$  %) (Teste Kruskal-Wallis;  $p < 0,05$ ), entre as restantes, a percentagem de mercúrio orgânico não foi considerada estatisticamente diferente.

Este facto foi também verificado por Andersen & Depledge (1997) que refere que, de um modo geral, as proporções de mercúrio orgânico variam pouco entre as espécies mas mostram alguma flutuação entre indivíduos da mesma espécie.



**Figura 22** – Percentagem (%) de mercúrio orgânico (Hg<sub>Org</sub>) e inorgânico (Hg<sub>Inorg</sub>) determinado no músculo (M) e fígado (F) das espécies estudadas.

Comparando entre tecidos, o peixe-espada-preto apresentou proporções diferentes de mercúrio orgânico e inorgânico (Mann-Whittney's *U*-test;  $p < 0,05$ ). No fígado, verificou-se então que, a percentagem de mercúrio inorgânico ( $65 \pm 8$  %) era superior à do orgânico ( $35 \pm 8$  %) enquanto no músculo, como já referido, predominava o orgânico.

Em relação às espécies de tamboril, a análise do teor de mercúrio orgânico no tecido muscular e no fígado não revelou diferenças estatisticamente relevantes, tendo o mesmo sido verificado para o mercúrio inorgânico (Mann-Whittney's *U*-test;  $p > 0,05$ ). De realçar, no entanto, que em ambos os tecidos o mercúrio orgânico foi superior ao inorgânico.

Branco *et al.*, 2007 verificaram também níveis elevados de mercúrio inorgânico no fígado quando comparado com o orgânico (representou cerca de 43 % do mercúrio total) numa espécie de tubarão mas o oposto em espadarte (teor de mercúrio orgânico representou cerca de 69 %).

Esta temática tem sido objecto de vários estudos, no sentido de se encontrar razões e explicações para os tecidos apresentarem diferentes quantidades de mercúrio e diferentes proporções de orgânico e inorgânico, todavia existe ainda muita controvérsia.

Assim, Baeyens *et al.* (2003) referem que, quanto menor a contaminação do peixe maior a razão entre o teor mercúrio total no fígado e no músculo (razão fígado: músculo  $> 1$ ), constatação esta que contradiz o revelado por Riisgård & Hansen (1990).

A contaminação da dieta alimentar com mercúrio (formas orgânica e inorgânica), seguida da suspensão dessa contaminação, proporcionou aos autores Riisgård & Hansen (1990) a possibilidade do estudo da metabolização e excreção do mercúrio. Estes verificaram que, a concentração de mercúrio orgânico não decrescia no tecido muscular, mas decrescia no fígado, enquanto o inorgânico aumentava neste órgão. Estas observações sugeriam que o mercúrio orgânico era biotransformado no fígado em mercúrio inorgânico, sendo este último eventualmente excretado deste órgão pela via biliar para o tracto intestinal (Riisgård & Hansen, 1990). Como no tecido muscular não se verifica este fenómeno e tendo em conta a eficiente acumulação do mercúrio orgânico neste tecido (cerca de 90 % do mercúrio total é metilmercúrio), o resultado é um aumento deste em função da idade e do nível trófico (Riisgård & Hansen, 1990; Eisler, 2006; Amlund *et al.*, 2007).

Assim, o tempo de semi-vida do metal no tecido muscular do organismo é relativamente longo (Riisgård & Hansen, 1990; Monteiro *et al.*, 1991; Eisler, 2006; Amlund *et al.*, 2007).

Riisgård & Hansen (1990) concluíram no seu estudo que, quando os níveis de mercúrio são mais elevados no fígado comparativamente ao do músculo (razão fígado: músculo  $> 1$ ) implica que o animal não contaminado esteve sujeito a uma recente

exposição ao contaminante. Quando o peixe deixa de estar exposto ao mercúrio, a razão entre o teor de mercúrio no fígado e músculo é inversa ou seja menor que 1 (razão fígado: músculo  $<1$ ). No entanto, neste caso, este parâmetro é problemático na medida em que o peixe sujeito a uma exposição crónica apresenta uma razão teor de mercúrio fígado: músculo semelhante, ou seja menor que 1.

Tendo em conta os resultados do referido estudo, presume-se que o peixe-espada-preto, muito provavelmente, esteve sujeito a uma contaminação recente e as restantes espécies (tamboril, tamboril-sovaco-preto e raia) poderão estar sujeitos a uma exposição crónica ao mercúrio.

Existem alguns autores, na literatura consultada (Magalhães *et al.*, 2007), que referem que o facto de o mercúrio ser lipofílico predispõe a sua acumulação na gordura do peixe. Assim, segundo estes autores, quanto mais gordo o peixe maior a sua predisposição para acumulação de mercúrio.

Nesse sentido, no presente trabalho, foram efectuadas correlações entre o teor de mercúrio e a percentagem de gordura. Embora estas correlações não tenham sido estatisticamente significativas ( $p>0,05$ ), verificou-se que apresentavam sempre uma tendência negativa, facto este também verificado por Balshaw *et al.* (2008).

Por outro lado, como se sabe, a toxicidade do mercúrio está relacionada com a sua grande afinidade para os grupos sulfidrilo (-SH) das proteínas (Raymond & Ralston, 2004; Baeyens *et al.*, 2003; Carvalho *et al.*, 2005; Eisler, 2006; Balshaw *et al.*, 2008; Hajeb *et al.*, 2009) e uma vez ligado a estes a sua propriedade lipofílica é perdida e, consequentemente, o teor em lípidos não determina a distribuição ou concentração do metilmercúrio nos tecidos (Carvalho *et al.*, 2005). Corroborando estes autores, um estudo efectuado por Amlund *et al.* (2007), revelou que, em bacalhau, mais de 99 % do mercúrio se encontrava na fracção proteica e que a sua acumulação era independente do teor de gordura do peixe.

Por outro lado, segundo alguns autores (Nakao *et al.*, 2007), é esperado então, que o teor de mercúrio diminua com a redução do teor em proteína, na medida em que a quantidade de locais de ligação do mercúrio diminuam.

No nosso trabalho, a partir das correlações efectuadas entre o teor de mercúrio e a percentagem de proteína não foi verificada qualquer correlação positiva ( $p>0,05$ ) ou tendência.

O facto dos tecidos das espécies não apresentarem variações de mercúrio no tecido muscular correlacionados com o seu teor proteico poderá ser explicado uma vez



que o mercúrio está ligado directamente com os grupos sulfidrilo (-SH) das proteínas, podendo, desta forma, não estar relacionado com as variações do teor total de proteína determinada no peixe (Balshaw *et al.*, 2008).

#### **3.4.1.1.1 Mercúrio e os dados biométricos**

Na medida em que os elementos não essenciais, como o mercúrio, não são regulados a um nível específico, ou são regulados com menos eficiência, as variações das concentrações destes elementos são reflexo de inúmeros factores, entre eles o tamanho e a idade dos animais (Ruiter, 1995; Mormede & Davies, 2001; Gašpić *et al.*, 2002; Storelli *et al.*, 2002; Storelli *et al.*, 2003; Storelli *et al.*, 2005<sup>a,b</sup>; Eisler, 2006; Branco *et al.*, 2007; Magalhães *et al.*, 2007; Capelli *et al.*, 2008).

No entanto, é importante referir que a influência da idade na acumulação dos elementos depende de diversos factores, como por exemplo, a disponibilidade desse elemento no ambiente, da taxa de destoxificação deste no animal e do tipo de tecido onde se acumula (Gašpić *et al.*, 2002).

No que respeita à idade, a bioacumulação de mercúrio possui duas fases: (1) durante o período inicial de crescimento do peixe, o mercúrio aumenta a um ritmo constante; (2) mais tarde, a inflexão e decréscimo na taxa de crescimento é acompanhada pelo aumento exponencial da acumulação de mercúrio. Este efeito é evidente nas espécies que apresentam alguns anos de vida (mais de 5 anos) (Monteiro *et al.*, 1991), que é o caso das espécies estudadas.

Assim, o processo fisiológico que influencia a assimilação, distribuição e eliminação dos metais poluentes é influenciado pelo tamanho/idade dos animais (Ruiter, 1995; Mormede & Davies, 2001; Gašpić *et al.*, 2002; Storelli *et al.*, 2002; Storelli *et al.*, 2003; Storelli *et al.*, 2005<sup>a,b</sup>; Branco *et al.*, 2007; Magalhães *et al.*, 2007; Capelli *et al.*, 2008).

No presente trabalho, foram efectuadas correlações no sentido de verificar a existência de relações entre o comprimento e peso e a acumulação de mercúrio (total, orgânico e inorgânico) nos dois tecidos (Tabela 34). Pode-se então constatar que as correlações significativas obtidas foram positivas, o que ilustra a grande acumulação deste contaminante nos indivíduos maiores quando comparados com os de menores dimensões. A falta de correlações significativas verificadas no areeiro pode ser devida ao limitado número de indivíduos amostrados (n=5).

De facto, na literatura são vários os autores que referem a existência de correlações positivas entre a acumulação de mercúrio (total e/ou orgânico) nos tecidos quer com o comprimento (Monteiro & Lopes, 1990, Monteiro *et al.*, 1991; García-Montelongo *et al.*, 1994; Andersen & Depledge, 1997; Cronin *et al.*, 1998; Barghigiani *et al.*, 2000; Storelli *et al.*, 2000<sup>a</sup>; Baeyens *et al.*, 2003; Branco *et al.*, 2007; Bebianno *et al.*, 2007; Magalhães *et al.*, 2007; Seixas *et al.*, 2007), quer com o peso (Monteiro & Lopes, 1990; Andersen & Depledge, 1997; Barghigiani *et al.*, 2000; Storelli *et al.*, 2005<sup>a,b</sup>; Magalhães *et al.*, 2007).

**Tabela 34** – Correlações significativas entre o teor de mercúrio total, orgânico e inorgânico no músculo e fígado e os dados biométricos das espécies estudadas.

		PEP <sup>#</sup>	PEB	TA	ARE	AQM	PE
<b>Comprimento versus</b>	Tecido						
<b>Hg<sub>T</sub></b>	Músculo	r=0,522 p<0,001	r=0,821 p=0,004	r=0,645 p=0,024	n.s.	r=0,759 p<0,001	r=0,811 p<0,001
	Fígado	r=0,511 p<0,001	-	r=0,603 p=0,038	-	-	-
<b>Hg<sub>Org</sub></b>	Músculo	r=0,787 p=0,007	r=0,815 p=0,004	n.s.	n.s.	r=0,730 p=0,040	r=0,796 p=0,006
	Fígado	r=0,696 p=0,025	-	n.s.	-	-	-
<b>Hg<sub>Inorg</sub></b>	Músculo	n.s.	r=0,668 p=0,035	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	Fígado	r=0,726 p=0,017	-	n.s.	-	-	-
<b>Peso versus</b>							
<b>Hg<sub>T</sub></b>	Músculo	n.s.	r=0,820 p=0,004	r=0,662 p=0,019	n.s.	r=0,692 p<0,001	r=0,839 p<0,001
	Fígado	r=0,307 p=0,030	-	r=0,662 p=0,019	-	-	-
<b>Hg<sub>Org</sub></b>	Músculo	n.s.	r=0,809 p=0,005	n.s.	n.s.	n.s.	r=0,810 p=0,005
<b>Hg<sub>Inorg</sub></b>	Músculo	n.s.	r=0,693 p=0,026	n.s.	r=0,903 p=0,036	r=0,755 p=0,030	n.s.

#: idêntico à Tabela 6; n.s.- não significativo (p>0,05)

#### 3.4.1.1.2 Mercúrio e habitat/zona geográfica

A origem do mercúrio no meio aquático pode ser antropogénica ou natural (Fraústo da Silva, 1985; Depledge *et al.*, 1992; Azcue, 1993; Chang & Cockerham, 1994; Ruiter, 1995; Goyer, 1996; Renzoni *et al.*, 1998; Belitz & Grosch, 1999; Storelli *et al.*, 2005<sup>b</sup>; Eisler, 2006; Magalhães *et al.*, 2007). No ambiente aquático, o mercúrio inorgânico pode ser convertido em compostos orgânicos de mercúrio (Storelli *et al.*,

2003; Storelli *et al.*, 2005<sup>b</sup>; Eisler, 2006; Magalhães *et al.*, 2007; Hajeb *et al.*, 2009) e desta forma rapidamente incorporado nos tecidos dos organismos aquáticos.

Assim, o teor de mercúrio, e outros elementos, nos diversos tecidos dos peixes é influenciado pela contaminação do meio aquático onde habitam (Storelli *et al.*, 2005<sup>b</sup>; Eisler, 2006; Magalhães *et al.*, 2007). Existem diversos estudos que demonstram essa variabilidade dos teores de mercúrio em espécies de peixes capturadas em diferentes zonas geográficas (Storelli *et al.*, 2005<sup>b</sup>; Branco *et al.*, 2007) e a diversas profundidades (Magalhães *et al.*, 2007).

Como exemplo, é de referir um estudo efectuado por Storelli *et al.* (2005<sup>b</sup>) em que a pescada capturada no Mar Jónico apresentou níveis de mercúrio total mais baixos comparativamente com a capturada no Mar Adriático. Por outro lado, segundo Magalhães *et al.* (2007) espécies que habitam zonas mais profundas podem apresentar níveis de mercúrio mais elevados nos seus tecidos, como por exemplo temos as espécies epipelágicas que podem apresentar níveis de mercúrio mais baixos que as mesoplágicas.

No que respeita à zona geográfica, a Tabela 35 revela teores de mercúrio total de espécies idênticas às utilizadas neste trabalho, capturadas e/ou comercializadas em diferentes áreas (na costa continental portuguesa, ao largo dos arquipélagos da Madeira e Açores, no Mar do Norte, no Mar Mediterrâneo bem como adquiridas em alguns mercados) reportadas por diversos autores.

Nesta comparação é necessário ter em conta que, a natureza vulcânica dos arquipélagos da Madeira (Renzoni *et al.*, 1998) e Açores (Depledge *et al.*, 1992) e a poluição do mar Mediterrâneo (Renzoni *et al.*, 1998; Eisler, 2006) são associadas a elevados teores de mercúrio nas suas águas. Segundo Renzoni *et al.* (1998) e Eisler (2006) os peixes que residem no Mediterrâneo podem apresentar valores de mercúrio muito superiores (3 a 4 vezes mais) quando comparados com os que residem no Atlântico nordeste.

Assim, comparando os valores médios obtidos no presente trabalho para o peixe-espada-preto capturado ao longo da costa portuguesa e os referidos por diversos autores (Afonso *et al.*, 2007; Bebianno *et al.*, 2007) para espécimes capturados nos arquipélagos da Madeira e/ou Açores, verifica-se que, em regra, estes últimos apresentam teores médios mais elevados de mercúrio total, quer no músculo ou fígado, que os obtidos. Por outro lado, valores médios semelhantes aos obtidos foram referidos para exemplares provenientes da mesma zona geográfica estudada (Carvalho *et al.*, 2008).

No que respeita ao peixe-espada-branco, valores semelhantes aos obtidos foram referidos para peixes capturados no Mar Adriático (Storelli *et al.*, 2008) e mais baixos (Andersen & Depledge, 1997) ou mais altos (Magalhães *et al.*, 2007) que os obtidos no Arquipélago dos Açores

Em relação às espécies de tamboril os teores médios de mercúrio total foram mais baixos que os obtidos por Storelli & Marcotrigiano (2000<sup>a</sup>) em espécies provenientes do Mar Adriático e mais altos que os referidos por Baeyens *et al.* (2003) oriundos do Mar do Norte.

O areeiro apresentou valores mais altos do que os capturados no Mar Adriático (Storelli *et al.*, 2008) e Mar do Norte (Baeyens *et al.*, 2003) enquanto o areeiro-de-quatro-manchas exibiu concentrações de mercúrio semelhantes às obtidas por outros autores em espécimes pescados no Mar Adriático (Storelli & Marcotrigiano, 2000<sup>a</sup>; Storelli *et al.*, 2008).

Quanto à pescada-europeia as concentrações obtidas são comparáveis às de espécimes do Mar Adriático (Storelli *et al.*, 2005<sup>b</sup>; Storelli, 2008), mas mais elevadas que as obtidas para indivíduos provenientes do Mar Jónico (Storelli *et al.*, 2005<sup>b</sup>).

Apenas as raias do Mar do Norte apresentaram níveis de mercúrio mais baixos (Baeyens *et al.*, 2003) que os obtidos, enquanto as do Mediterrâneo (Mar Jónico e Adriático) possuíam teores mais elevados (Storelli *et al.*, 2003; Storelli, 2008).

Analisando globalmente as comparações efectuadas parece que as espécies provenientes das águas do Arquipélagos da Madeira e dos Açores e do Mar Adriático apresentam, para algumas espécies, teores de mercúrio total mais elevado do que as obtidas para as provenientes da costa continental portuguesa. As capturadas no mar do Norte apresentam, em regra, concentrações mais baixas que as obtidas. No entanto, é importante não esquecer, como já referido, que existem factores não utilizados nesta comparação, como a idade, o comprimento e o peso do peixe, o tipo de alimento ingerido pelo peixe, entre outros, que podem influenciar também a acumulação deste contaminante.

**Tabela 35** – Teores de mercúrio total, expresso em mg/kg, e orgânico, expresso em mg/kg e em percentagem (%), referenciados na literatura.

Espécie <sup>#</sup>	Tecido	Hg Total (mg/kg)	Hg Orgânico (mg/kg)	Hg Orgânico (%)	Zona geográfica de captura	Referência
PEP	Músculo	0,599±0,0161 <sup>1)</sup>	-	-	ZEE Continente Português	Carvalho <i>et al.</i> (2008)
	Músculo	0,89±0,26 0,45-1,43 <sup>2)</sup>	-	-	ZEE dos Açores	Afonso <i>et al.</i> (2007)
	Fígado	2,37±1,79 0,28-7,63	-	-	ZEE dos Açores	Afonso <i>et al.</i> (2007)
	Músculo	0,90±0,27 0,19-1,44	-	-	ZEE da Madeira	Afonso <i>et al.</i> (2007)
	Fígado	4,50±2,47 0,30-11,29	-	-	ZEE da Madeira	Afonso <i>et al.</i> (2007)
	Músculo	0,30-2,34 <sup>a</sup>	-	-	ZEE da Madeira	Bebianno <i>et al.</i> (2007)
	Fígado	0,43-2,95 <sup>a</sup>	-	-	ZEE da Madeira	Bebianno <i>et al.</i> (2007)
	Músculo	0,4-1,8	-	-	ZEE da Madeira	Renzoni <i>et al.</i> (1998)
	Músculo	0,42±0,01	-	>94%	Mercado espanhol	Cabañero <i>et al.</i> (2004)
PEB	Músculo	0,59±0,32 0,16-1,15	-	-	Mar Adriático	Storelli (2008)
	Músculo	1,44±0,12 0,23-3,20	1,33±0,14 0,13-2,88	89±3 53-128	ZEE dos Açores	Magalhães <i>et al.</i> (2007)
	Músculo	0,277 0,123-0,590	0,224 0,092-0,497	80,1 62,8-93,2	ZEE dos Açores	Andersen & Depledge (1997)
TA	Músculo	0,087±0,024	0,08±0,22	92,5±5,4	Mar do Norte	Baeyens <i>et al.</i> (2003)
	Músculo	0,089	-	-	Mercado Italiano	Plessi <i>et al.</i> (2001)
	Músculo	1,26±0,58 0,61-2,22	-	-	Mar Adriático	Storelli & Marcotrigiano (2000 <sup>a</sup> )
TSP	Músculo	0,68±0,36 0,22-1,62	-	-	Mar Adriático	Storelli & Marcotrigiano (2000 <sup>a</sup> )
ARE	Músculo	0,29±0,15 0,09-0,41	-	-	Mar Adriático	Storelli (2008)
	Músculo	0,083±0,046	0,080±0,046	96,7±4,3	Mar do Norte	Baeyens <i>et al.</i> (2003)
AQM	Músculo	0,35±0,19 0,14-0,69	-	-	Mar Adriático	Storelli (2008)
	Músculo	0,39±0,30 0,05-0,92	-	-	Mar Adriático	Storelli & Marcotrigiano (2000 <sup>a</sup> )
	Músculo	-	-	84±9	Mar Tirreno	Barghigiani <i>et al.</i> (1991)
PE	Músculo	0,18±0,12 0,04-0,48	-	-	Mar Adriático	Storelli (2008)
	Músculo	<0,5	-	-	Mercado Espanhol	Martí-Cid <i>et al.</i> (2007)
	Músculo	0,09±0,08 ND-0,30	0,09±0,07 ND-0,30	98,3 73-100	Mar Jónico	Storelli <i>et al.</i> (2005 <sup>b</sup> )
	Músculo	0,18±0,12 0,04-0,48	0,16±0,10 0,04-0,48	90,8 60-100	Mar Adriático	Storelli <i>et al.</i> (2005 <sup>b</sup> )
	Músculo	0,086	-	-	Mercado Italiano	Plessi <i>et al.</i> (2001)
Ra						
<i>R. clavata</i>	Músculo	0,87±0,52 0,50-1,24			Mar Adriático	Storelli (2008)
<i>Raja sp.</i>	Músculo	0,39-0,45 <sup>a</sup>			Mar Adriático	Storelli (2008)
<i>R. clavata</i>	Músculo	1,10±0,27	1,10±0,27	100	Mar Jónico e Adriático	Storelli <i>et al.</i> (2003)
<i>Raja sp.</i>	Músculo	0,81-1,671 <sup>a</sup>			Mar Jónico e Adriático	Storelli <i>et al.</i> (2003)
<i>Raja sp.</i>	Músculo	0,039±0,021	0,037±0,019	97,8±6,4	Mar do Norte	Baeyens <i>et al.</i> (2003)

#: idêntico à Tabela 6; ND – não detectado; a - variação dos valores médios obtidos; 1) média±desvio padrão; 2) gama de variação

Em relação à profundidade a que os peixes se encontram, é referido por diversos autores que peixes que habitam zonas mais profundas apresentam concentrações deste elemento mais elevadas no tecido muscular de que peixes mais pelágicos (Storelli *et al.*, 2003; Storelli *et al.*, 2005<sup>b</sup>; Magalhães *et al.*, 2007; Bebianno *et al.*, 2007), confirmando o processo de sedimentação e persistência deste metal a profundidades maiores (Storelli *et al.*, 2005<sup>b</sup>).

Visto isto, não é de estranhar que o peixe-espada-preto tenha sido a espécie que apresentou os teores mais elevados de mercúrio total, na medida em que, dentro das espécies estudadas, é a que se encontra a profundidades maiores, podendo atingir, nesta zona geográfica estudada os 1800 m de profundidade (Martins *et al.*, 1989).

#### **3.4.1.1.3 Mercúrio e a alimentação do peixe**

É aceite que a principal via de exposição ao mercúrio é a alimentar (Hajeb *et al.*, 2009). Assim, a presença de teores tão elevados de mercúrio nos peixes pode explicar-se pelo fenómeno da biomagnificação (Monteiro *et al.*, 1991; Mayans *et al.*, 1993; Torreblanca *et al.*, 1993; Handy, 1996; Eisler, 2006). De acordo com Torreblanca *et al.* (1993), a transferência de mercúrio, sobretudo nas suas formas orgânicas e particularmente na de metilmercúrio, de um nível trófico ao seguinte é muito eficiente. Deste modo, os organismos situados no topo da cadeia trófica apresentam níveis de metilmercúrio superiores nos seus tecidos em relação aos organismos que lhe servem de alimento (Monteiro *et al.*, 1991; Torreblanca *et al.*, 1993; Eisler, 2006; Régine *et al.*, 2006).

Desta forma, a classificação das espécies em relação ao seu comportamento alimentar é extremamente importante pois esta pode representar a base da acumulação do mercúrio no peixe (Hajeb *et al.*, 2009).

As espécies estudadas são carnívoras, e a estas estão normalmente associados níveis mais elevados de mercúrio nos seus tecidos, relativamente às não carnívoras e omnívoras. Esta observação desenha a progressiva bioacumulação de mercúrio ao longo da cadeia alimentar (Francesconi & Lenanton, 1992; Ruiter, 1995; Andersen & Depledge, 1997; Richard *et al.*, 2000; Storelli *et al.*, 2005<sup>a</sup>; Régine *et al.*, 2006; Eisler, 2006; Balshaw *et al.*, 2008).

Assim, comparativamente com outras espécies, como a sardinha (omnívoras) em que a base alimentar é o plâncton (fitoplâncton e zooplâncton), espécies como as

estudadas (carnívoras) apresentam níveis de mercúrio mais elevados nos seus tecidos (Hajeb *et al.*, 2009).

Como já foi referido, os indivíduos mais velhos possuem, em média, níveis de mercúrio mais altos. Em algumas espécies, em que os juvenis são omnívoros e os mais velhos estritamente carnívoros, a acumulação de mercúrio nos tecidos em relação à idade, está ainda mais acentuada pela evolução do regime alimentar (Richard *et al.*, 2000).

Segundo diversos autores (Storelli *et al.*, 2005<sup>a</sup>; Eisler, 2006; Régine *et al.*, 2006), animais predadores, que incluam uma grande percentagem de peixe na sua dieta, têm tendência a acumular maiores quantidades de mercúrio.

Contudo, verificou-se que as espécies de tamboril estudadas, que consomem preferencialmente peixe, não apresentaram os teores de mercúrio mais elevados quando comparadas com outras espécies como por exemplo as de peixe-espada (consomem peixes, crustáceos e cefalópodes) e areeiro-de-quatro-manchas (consome preferencialmente crustáceos). Desta forma, tal como o referido por Storelli *et al.* (2005<sup>a</sup>), existem outros factores que influenciam o teor de mercúrio nos tecidos do peixe.

Assim pode-se dizer que, espécies predadoras e carnívoras, que vivem vários anos, como as estudadas, tendem a acumular mais mercúrio do que as outras espécies (Renzoni *et al.*, 1998).

#### **3.4.1.1.4 Mercúrio e a alimentação humana**

Os fenómenos biogeoquímicos regulam a transmissão de mercúrio aos níveis tróficos e deste modo levam à bioacumulação nos organismos aquáticos (Richard *et al.*, 2000; Eisler, 2006; Magalhães *et al.*, 2007). Esta concentração de mercúrio ao longo da cadeia alimentar representa um risco toxicológico, particularmente no fim da cadeia trófica, ou seja o Homem, que consome esse pescado (Richard *et al.*, 2000; Storelli *et al.*, 2003; Storelli *et al.*, 2005<sup>a</sup>; Eisler, 2006; Magalhães *et al.*, 2007; Balshaw *et al.*, 2008; Castro-González & Méndez-Armenta, 2008; Hajeb *et al.*, 2009).

A saúde humana é muito influenciada pela dieta alimentar. Uma dieta adequada deve fornecer nutrientes em quantidade suficiente, conter baixos níveis de organismos patogénicos bem como de contaminantes químicos (Martí-Cid *et al.*, 2007).

Recentemente, baseado na importância dos benefícios do peixe como parte fundamental de uma dieta saudável, houve uma grande promoção do consumo do peixe. No entanto, o balanço entre os riscos e benefícios do peixe, devido ao consumo de contaminantes químicos existentes na parte edível dos peixes, não está bem caracterizado (Domingo *et al.*, 2007).

O consumo de pescado contaminado é responsável por uma importante via de exposição dos humanos a elementos tóxicos (Gašpić *et al.*, 2002; Martí-Cid *et al.*, 2007; Lavilla *et al.*, 2008). Desta forma o seu controlo analítico (Lavilla *et al.*, 2008) e o conhecimento acerca do teor de metais contaminantes no pescado é de extrema importância na medida em que a protecção do consumidor apenas é eficiente quando estão disponíveis dados exactos desses elementos para determinada espécie (Celik *et al.*, 2004).

A diversidade e quantidade de pescado consumido por uma população predis põem à ingestão de diferentes teores de mercúrio. Assim, o risco associado ao consumo deste contaminante varia consideravelmente de acordo com a população alvo. Esta observação tem particular importância em certos sectores da população, como os pescadores e os familiares, que, tendo maior acesso a produtos da pesca que outras pessoas, constituem um grupo com um risco potencialmente elevado (Gaggi *et al.*, 1996; Renzoni *et al.*, 1998; Storelli *et al.*, 2003; Storelli *et al.*, 2005<sup>b</sup>).

Desta forma, diversos estudos, efectuados em populações de risco, incluindo crianças e mulheres grávidas, fazem referência a elevados níveis de mercúrio encontrados nos cabelos e sangue. Como exemplo, pode distinguir-se destas, a população piscatória de Câmara de Lobos na Ilha da Madeira, dos arquipélagos de “Tuscan” e “Eolian”, das Maldivas, Seicheles (Gaggi *et al.*, 1996; Renzoni *et al.*, 1998) e a do norte do Mar Tirreno (Renzoni *et al.*, 1998; Barghigiani *et al.*, 2000).

No entanto, segundo Raymond & Ralston (2004), depois dos episódios de Minamata e Nigata, não foram observados casos de crianças com sintomas de envenenamento fetal provocado pelo consumo de mercúrio. Segundo estes autores, esta situação causa muita controvérsia no que respeita ao consumo de peixe e aos riscos que podem advir da ingestão de metilmercúrio.

Corroborando o referido por este autor, Murata *et al.* (1999) examinaram 149 crianças que viviam em comunidades piscatórias da Madeira. Os cabelos das mães serviram como indicadores da exposição pré-natal destas crianças. Estes autores não identificaram nenhuma relação entre o teor de mercúrio nos cabelos das crianças e



problemas visuais, auditivos, ou outros sintomas que possam advir do consumo de mercúrio. Num outro estudo, efectuado em crianças residentes nas Seicheles, pré e pós-natal, foi constatado que o consumo de peixe, mesmo contendo quantidades usuais de mercúrio, apresentavam efeitos benéficos e não constituíam um perigo (Raymond & Ralston; 2004).

Contrariamente ao verificado nestes trabalhos, foram registados problemas de saúde em pescadores locais e em mulheres grávidas numa zona poluída em Itália (norte do Mar Tirreno), duas populações de risco, devido à ingestão de alimentos contaminados com mercúrio (Renzoni *et al.*, 1998; Barghigiani *et al.*, 2000) e em populações das Ilhas Faroe onde foram identificados efeitos adversos, pré natal, provocados pela exposição ao metilmercúrio (Raymond & Ralston; 2004; Eisler, 2006).

Sabe-se, no entanto, que esta última população inclui baleias na sua alimentação enquanto, por exemplo, a população das Seicheles não. Estes cetáceos para além de possuírem PCB, e outras toxinas não encontradas normalmente nos peixes, possuem teores de metilmercúrio extremamente elevados (o teor de mercúrio pode exceder os 2000 mg/kg) podendo este último exceder em muito o teor em selénio (Raymond & Ralston; 2004; Eisler, 2006).

Por outro lado, contrariando muitos estudos, o elevado consumo de peixe na Finlândia foi associado ao aumento de doenças coronárias. No entanto, este aumento deveu-se, muito provavelmente, ao baixo consumo de selénio por parte da população, tendo o mercúrio contribuído para o risco de aparecimento de doenças coronárias na medida em que este metal complexa com o selénio, reduzindo desta forma a sua biodisponibilidade para a glutathione peroxidase, e assim promovendo a peroxidação lipídica (Raymond & Ralston, 2004).

Como é sabido, a toxicidade do mercúrio está relacionada com a sua grande afinidade para os grupos sulfidrilo (-SH) das proteínas (Raymond & Ralston, 2004; Baeyens *et al.*, 2003; Balshaw *et al.*, 2008; Hajeb *et al.*, 2009). Apesar de fisiologicamente o enxofre (S) ser mais abundante do que o selénio, devido à sua grande afinidade, o mercúrio liga-se selectivamente a este último. Tem sido por isso assumido, que o selénio reduz os efeitos adversos provocados pelo mercúrio (Lall, 1995; Raymond & Ralston, 2004; Eisler, 2006; Sivaperumal *et al.*, 2007)

Estudos efectuados em ratos, alimentados com peixe contendo metilmercúrio, confirmam este aspecto na medida em que os animais não apresentam os efeitos

neurotóxicos característicos do envenenamento por este composto. Raymond & Ralston, (2004) sugerem que este facto se deve aos elevados teores de selénio no peixe, pelo menos 2 vezes superiores aos de mercúrio, numa base molar.

Desta forma, devido à interacção entre estes dois elementos, o selénio parece ter um efeito na biodisponibilidade do mercúrio (Pigott & Tucker, 1990; Raymond & Ralston; 2004; Eisler, 2006).

É razoável então assumir que o selénio possui efeitos na biodisponibilidade do mercúrio mas também possui efeitos sobre a sua disponibilidade para a síntese e actividade normal das enzimas dependentes do selénio. Este facto reflecte a importância da manutenção de quantidades suficientes de selénio no organismo (Raymond & Ralston; 2004)

Segundo diversos autores (Plessi *et al.*, 2001; Cabañero *et al.*, 2004) a razão molar entre o teor de Se e Hg pode ajudar a antecipar qual a espécie mais favorável para consumo humano.

A Tabela 36 revela a razão molar obtida entre o mercúrio total e o selénio, podendo verificar-se que o teor de selénio excede o teor em mercúrio encontrado nos tecidos. Assim, no músculo das espécies estudadas, esta razão oscilou, em média, entre um mínimo de 2,9 (areeiro-de-quatro-manchas) e um máximo de 5,1 (pescada-europeia e raia), não se verificando, no entanto, diferenças significativas entre as espécies (Teste Kruskal-Wallis;  $p>0,05$ ). Estes valores obtidos estão de acordo com os referenciados por outros autores (Andersen & Depledge, 1997; Plessi *et al.*, 2001; Cabañero *et al.*, 2004). No fígado a razão obtida foi, em média, de 26,6 no peixe-espada-preto e 50,7 nas espécies de tamboril.

Atendendo aos resultados, não se considera uma espécie preferencial em detrimento de outra, na medida em que a concentração, numa base molar, de selénio é maior que a de mercúrio total em todas as espécies e ambos os tecidos.

**Tabela 36** – Razão molar entre o teor de selênio e mercúrio total (Se:Hg<sub>T</sub>) no músculo e fígado das espécies estudadas.

	<i>Se:Hg<sub>T</sub></i>	
	Músculo	Fígado
<b>PEP<sup>#</sup></b>	3,1±2,3 (1,0 – 7,9)	26,6±25,0 (3,1 – 64,0)
<b>PEB</b>	3,3±4,6 (0,7 – 16,2)	ND
<b>TA</b>	4,6±2,1 (2,6 – 8,4)	50,7±43,0 (6,8 – 28,6)
<b>TSP</b>	5,0±5,0 (0,9 – 13,9)	50,7±43,0 (17,2 – 113,3)
<b>ARE</b>	3,1±2,2 (1,0 – 6,5)	ND
<b>AQM</b>	2,9±2,2 (1,3 – 7,6)	ND
<b>PE</b>	5,1±4,3 (1,3 – 14,0)	ND
<b>RA</b>	5,1±3,5 (0,7 – 13,0)	ND

#: idêntico à Tabela 6

**3.4.1.1.5 - Mercúrio e valores legislados/recomendados**

Como já referido, o objectivo da monitorização de alimentos é identificar substâncias tóxicas e perigosas para a saúde humana, tais como alguns metais tóxicos. O mercúrio é um contaminante químico que causa crescente preocupação a nível mundial, sendo a sua concentração média no pescado muito mais elevada do que em outros alimentos (Polak-Juszczak, 1997; Renzoni *et al.*, 1998; Raymond & Ralston, 2004).

Na medida em que o pescado é o principal veículo de mercúrio na dieta alimentar para a maioria das populações (cerca de 90 %), que o tecido muscular é o principal reservatório deste elemento (Plessi *et al.*, 2001; Balshaw *et al.*, 2008) e que o fígado pode acumular/concentrar grandes quantidades deste elemento tóxico, existe, desta forma, uma necessidade de regular o consumo de peixe, com base nos teores de mercúrio nas espécies de peixe usualmente consumidas, de modo a que se possa reduzir o risco toxicológico das populações que os consomem (Balshaw *et al.*, 2008).

Assim, de modo a salvaguardar a saúde pública, têm sido estabelecidos limites máximos de mercúrio total em diversos países (Storelli *et al.*, 2003)

Os teores máximos de mercúrio total permitidos pela Comissão Europeia (UE, 2008) variam consoante a espécies. Para as espécies estudadas este limite máximo é de

1,0 mg/kg sendo apenas diferente no caso da pescada-europeia para a qual o limite é de 0,5 mg/kg.

Atendendo aos valores obtidos, verifica-se que alguns dos exemplares estudados apresentaram no tecido muscular valores superiores ao limite estabelecido. Assim, cerca de 8 % dos exemplares de peixe-espada-preto, 20 % de peixe-espada-branco, 5 % de tamboril-sovaco-preto, 2 % de areeiro-de-quatro-manchas e 3 % de pescada-europeia continham valores superiores ao referido limite. Nenhum exemplar de tamboril e raia apresentou valores acima dos legislados.

No que respeita ao fígado, o Regulamento da Comissão Europeia é omissivo, não existindo por isso valores legislados para o teor de mercúrio total nesse órgão.

O comité perito em aditivos alimentares e contaminantes (JEFCA) da FAO/WHO (Organização para a Alimentação e Agricultura/Organização Mundial de Saúde) recomenda uma ingestão semanal tolerável provisória (PTWI) de 5 µg/kg de peso corporal (WHO, 1972) para o mercúrio total e de 1,6 µg/kg de peso corporal para o metilmercúrio (WHO, 2003<sup>b</sup>).

Como já referido, Portugal é um dos países europeus com maior consumo de pescado por habitante, com cerca de 57 kg por ano (FAO, 2007) o que corresponde a cerca de 160 g de peixe por dia *per capita*.

No presente trabalho, calculou-se a quantidade ingerida deste contaminante, através do cálculo da dose de ingestão diária (µg/kg peso corporal), utilizando os valores médios obtidos de mercúrio total e orgânico e considerando um adulto de 60 kg e uma ingestão diária de 160 g de peixe (Tabela 37).

A partir dos resultados obtidos, pode constatar-se que o PTWI estabelecido para o mercúrio total (5 µg/kg de peso corporal), para um indivíduo de 60 kg, não é atingido com uma dose de 160 g de peixe.

No que respeita ao mercúrio orgânico o valor de 1,6 µg/kg de peso corporal é atingido na totalidade, tamboril-sovaco-preto, ou parcialmente, espécies de peixe-espada e de areeiros, com apenas uma refeição de 160 g. As restantes espécies, tamboril, pescada-europeia e raia, é necessária a ingestão de cerca de 480 g do peixe (cerca de 3 doses de 160 g) para que este PTWI recomendado seja atingido.

Atendendo a estes resultados e à simulação efectuada, as espécies estudadas, principalmente a de tamboril-sovaco-preto, espécies de peixe-espada e de areeiros, devem ser consumidas com moderação, provavelmente não mais do que uma vez por semana.

**Tabela 37** – Concentração média de mercúrio (total e orgânico) no músculo, expresso em mg/kg, e a dose diária estimada, expressa em µg/kg peso corporal, para um adulto de 60 kg e considerando um consumo diário de 160 g de peixe.

<b>Espécie<sup>#</sup></b>	<b>Hg<sub>T</sub></b> (mg/kg)	<b>Dose diária estimada de Hg<sub>T</sub></b> (µg/kg peso corporal)	<b>Hg<sub>Org</sub></b> (mg/kg)	<b>Dose diária estimada Hg<sub>Org</sub></b> (µg/kg peso corporal)
<b>PEP</b>	0,63	1,69	0,51	1,36
<b>PEB</b>	0,54	1,43	0,46	1,24
<b>TA</b>	0,33	0,89	0,21	0,55
<b>TSP</b>	0,48	1,28	0,63	1,69
<b>ARE</b>	0,40	1,06	0,36	0,96
<b>AQM</b>	0,33	0,87	0,42	1,11
<b>PE</b>	0,21	0,57	0,23	0,61
<b>RA</b>	0,24	0,65	0,21	0,57

<sup>#</sup>: idêntico à Tabela 6

No que respeita ao fígado do peixe-espada-preto, atendendo aos valores médios obtidos de mercúrio, seria necessário um consumo superior a 200 g deste órgão para se atingir o PTWI, quer para o mercúrio total quer para o mercúrio orgânico (num indivíduo de 60 kg). Nas restantes espécies de peixes, onde foi doseado o mercúrio total (espécies de tamboril e raia) e orgânico (espécies de tamboril), era necessária a ingestão de mais de 600 g deste órgão semanalmente para que os PTWI fossem ultrapassados, quantidades improváveis tendo em conta os consumos usuais em Portugal.

### 3.4.2 Cádmio e chumbo

Os teores de cádmio e chumbo foram determinados no tecido muscular e fígado das diferentes espécies estudadas, encontrando-se os resultados obtidos nas Figuras 23 e 24 e no Anexo III (Quadro VII).

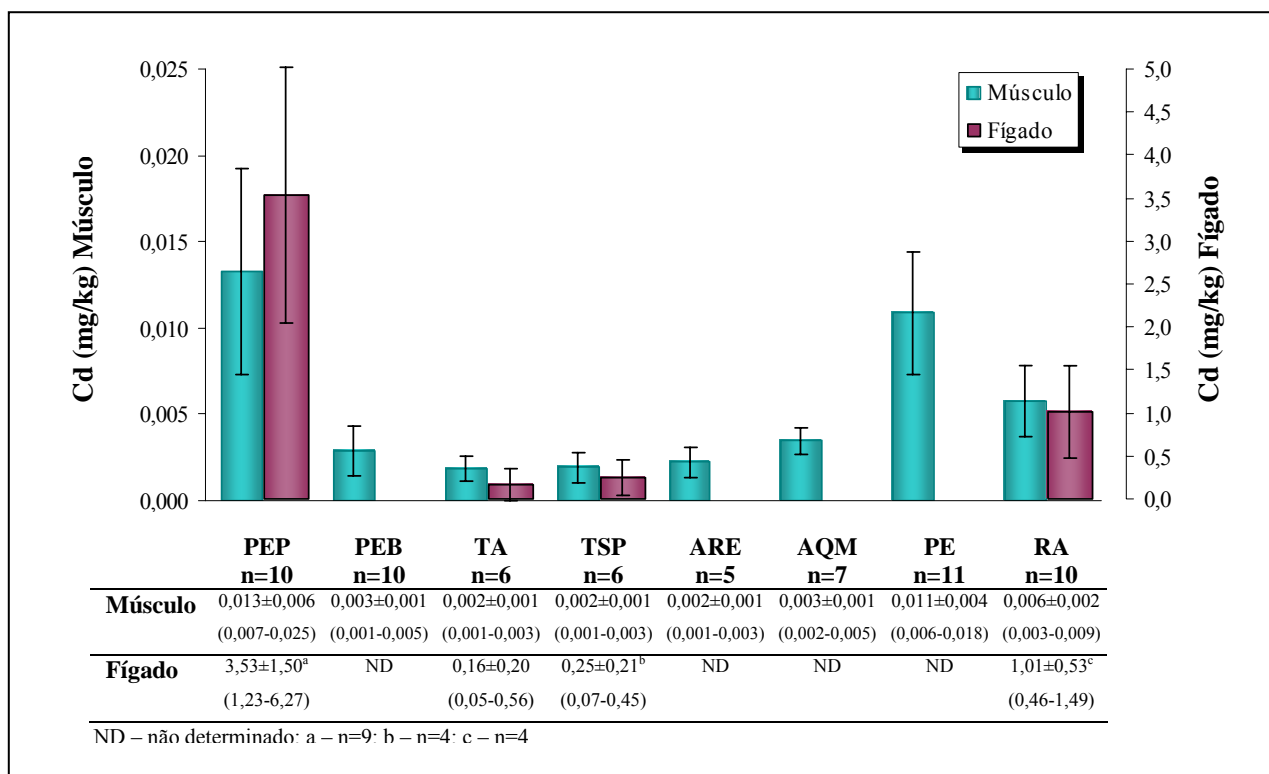
No que respeita ao cádmio, verificou-se que os valores obtidos oscilaram entre 0,001 e 0,025 mg/kg no músculo e 0,05 e 6,27 mg/kg no fígado.

O peixe-espada-preto (0,013±0,006 mg/kg) e a pescada-europeia (0,011±0,004 mg/kg) exibiram os níveis mais elevados no músculo quando comparados com os encontrados no peixe-espada-branco, tamboril, tamboril-sovaco-preto e areeiro, onde o valor médio não excedeu os 0,003 mg/kg (Tabela 38).

Comparativamente com o músculo, o fígado apresentou elevadas concentrações deste elemento (Mann-Whitney's *U*-test;  $p < 0,05$ ), tendo no peixe-espada-preto sido verificado um valor máximo de 6,27 mg/kg. Esta espécie foi, em relação às duas

espécies de tamboril, a que apresentou concentrações mais elevadas deste metal no fígado (Teste Kruskal-Wallis;  $p < 0,05$ ).

De igual modo, Mormede & Davies (2001) verificaram que o peixe-espada-preto apresentava concentrações mais elevadas de cádmio no fígado quando comparadas com as encontradas no tamboril.



**Figura 23** – Teor de cádmio, expresso em mg/kg (média±desvio padrão), determinado nos tecidos das espécies estudadas.

**Tabela 38** – Resultado do teste estatístico efectuado para a comparação entre espécies (cádmio no músculo das espécies estudadas).

Cd (Teste Kruskal-Wallis)							
	PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE
PEB <sup>#</sup>	**						
TA	***	n.s.					
TSP	***	n.s.	n.s.				
ARE	***	n.s.	n.s.	n.s.			
AQM	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		
PE	n.s.	**	***	***	*	n.s.	
RA	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

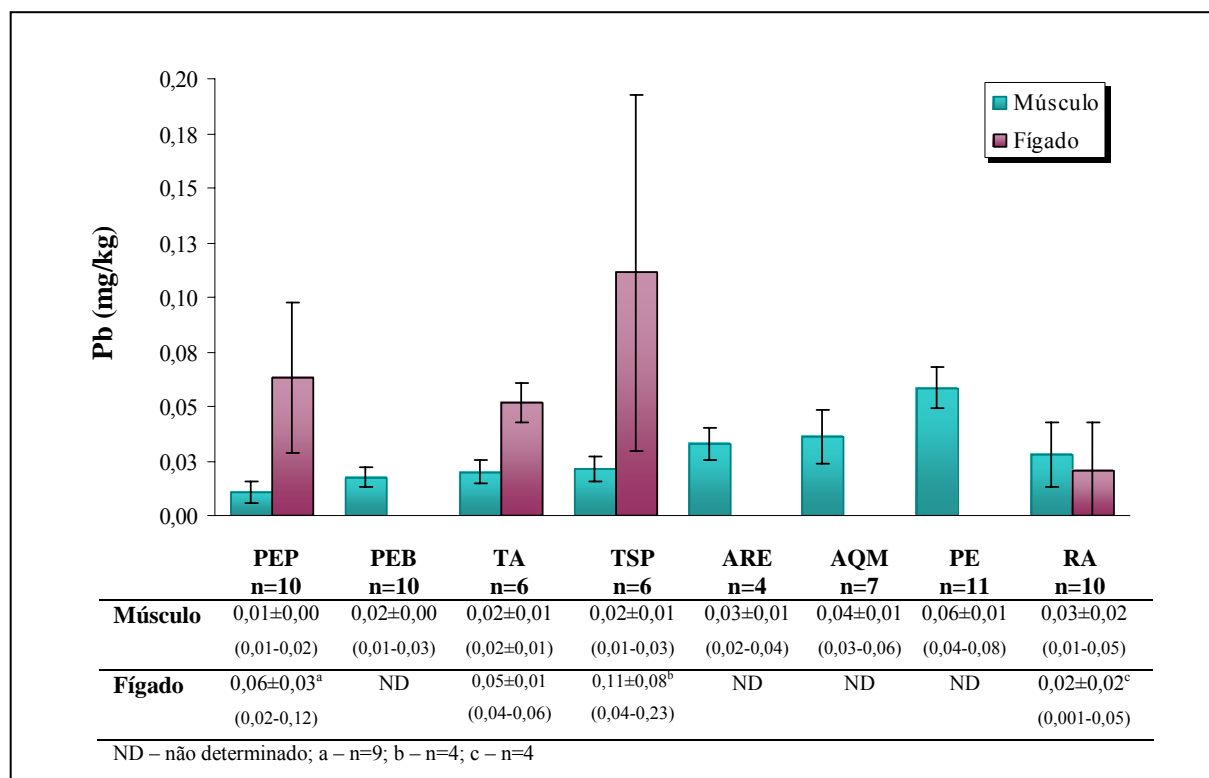
<sup>#</sup>: idêntico à Tabela 6; n.s.- não significativo; \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$

No que respeita ao chumbo, a concentração variou entre 0,01 (espécies de peixe-espada, espécies de tamboril, e raias) e 0,08 mg/kg (pescada-europeia) no tecido muscular e 0,001 (raias) e 0,23 mg/kg (tamboril-sovaco-preto) no fígado (Figura 24).

A pescada-europeia foi, no que respeita ao teor de chumbo no músculo, a espécie que apresentou os valores mais elevados ( $0,06 \pm 0,01$  mg/kg). Essa concentração foi estatisticamente diferente das espécies de peixe-espada e das de tamboris que apresentaram teores mais baixos (Tabela 39). Por outro lado, o peixe-espada-preto exibiu também níveis mais baixos que os encontrados nas espécies de areeiro.

No fígado e entre espécies, não foram verificadas quaisquer diferenças estatisticamente significantes no que respeita ao seu teor em chumbo (Teste Kruskal-Wallis;  $p > 0,05$ ).

Comparando o teor de chumbo encontrado nos tecidos estudados verificou-se que, a raia, contrariamente ao verificado no peixe-espada-preto (Mann-Whittney's *U*-test;  $p < 0,05$ ), tamboril (Mann-Whittney's *U*-test;  $p < 0,05$ ) e tamboril-sovaco-preto (*T* de Student;  $p < 0,05$ ), não apresentou diferenças entre os teores encontrados no músculo e no fígado (*T* de Student;  $p > 0,05$ ).



**Figura 24** – Teor de chumbo, expresso em mg/kg (média±desvio padrão), determinado nos tecidos das espécies estudadas.

**Tabela 39** – Resultado do teste estatístico efectuado para a comparação entre espécies (chumbo no músculo das espécies estudadas).

<b>Pb (Teste Kruskal-Wallis)</b>							
	PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE
PEB <sup>#</sup>	n.s.						
TA	n.s.	n.s.					
TSP	n.s.	n.s.	n.s.				
ARE	*	n.s.	n.s.	n.s.			
AQM	**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		
PE	***	***	*	*	n.s.	n.s.	
RA	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

<sup>#</sup>: idêntico à Tabela 6; n.s.- não significativo; \* p< 0,05; \*\* p<0,01; \*\*\*p<0,001

As correlações significativas encontradas entre o teor de cádmio e chumbo nos tecidos e os dados biométricos das espécies encontram-se na Tabela 40.

Em relação ao cádmio, as correlações observadas para o peixe-espada-preto e pescada-europeia foram negativas. De igual modo aos resultados obtidos, Mormede & Davies (2001), verificaram que no peixe-espada-preto os níveis de cádmio apresentavam uma correlação negativa significativa com o comprimento.

A ocorrência de correlações negativas, ou de tendências não significativas, entre a acumulação de diversos metais, como o cádmio, e o comprimento ou peso dos peixes pode ser resultado da elevada concentração destes elementos nos indivíduos juvenis comparativamente com os adultos. Este facto pode ser consequência da acentuada actividade metabólica verificada em animais mais jovens, que muitas vezes está associada ao insuficiente desenvolvimento dos mecanismos de destoxificação destes elementos (Gašpić *et al.*, 2002).

No que respeita ao chumbo, apenas foram verificadas correlações significativas no tamboril. De qualquer modo, tal como o referido pela ATSDR (2008<sup>a</sup>), verifica-se que os organismos mais velhos possuem níveis mais elevados deste metal.



**Tabela 40** – Correlações significativas entre os teores cádmio e chumbo e os dados biométricos das espécies estudadas.

		PEP <sup>#</sup>	TA	PE
<b>Comprimento versus</b>	Tecido			
<b>Cd</b>	Músculo	r=-0,636 P=0,048	n.s.	r=-0,761 P=0,007
<b>Pb</b>	Músculo	n.s.	r=0,947 p=0,004	n.s.
<b>Peso versus</b>				
<b>Cd</b>	Músculo	n.s.	n.s.	r=-0,639 P=0,034
<b>Pb</b>	Músculo	n.s.	r=0,954 p=0,003	n.s.

#: idêntico à Tabela 6; n.s. – não significativo ( $p > 0,05$ )

Assim, os resultados obtidos revelaram a existência de diferenças, entre algumas das espécies estudadas, no que respeita ao seu teor de cádmio e chumbo.

Muito embora estes elementos não se possam biomagnificar na cadeia alimentar, os organismos, incluindo os marinhos, podem bioconcentrar (Mayans *et al.*, 1993; Torreblanca *et al.*, 1993; Handy, 1996; ATSDR, 2008<sup>a,b</sup>). Desta forma, tal como para outros contaminantes, a concentração destes metais nos peixes pode variar bastante, reflectindo, entre outros factores, os níveis de exposição ambiental e o comportamento alimentar (Celik *et al.*, 2004; Burger & Gochfeld, 2005; Capelli *et al.*, 2008).

Por outro lado, a acumulação de cádmio e chumbo no peixe está dependente não só da sua taxa de absorção como também da de eliminação (Khan & Weis, 1993; Soto & Marigómez, 1995; Celik *et al.*, 2004; Magalhães *et al.*, 2007; DeForest *et al.*, 2007). Assim, as diferenças verificadas entre espécies podem sugerir que o processo de assimilação e distribuição destes elementos traço são específicos da espécie (Gašpić *et al.*, 2002). Por exemplo, Storelli *et al.* (2005<sup>a</sup>) sugeriram que os factores intrínsecos, como diferentes taxas metabólicas, com o consequente aumento ou diminuição da taxa de ingestão de alimentos, podem influenciar a concentração destes metais nos tecidos do peixe.

A profundidade a que o organismo se encontra na coluna de água também é importante quando se avalia a predisposição da espécie para a concentração destes contaminantes. Deste modo, muito embora os peixes exibam usualmente baixas concentrações de cádmio (ATSDR, 2008<sup>b</sup>) e chumbo (ATSDR, 2008<sup>a</sup>), de um modo geral as espécies que vivem a profundidades mais elevadas apresentam maiores

concentrações destes metais que espécies que habitam zonas menos profundas (Mormede & Davies 2001; Gašpić *et al.*, 2002). Este facto, que está directamente relacionado com a mobilidade do organismo, preferências alimentares ou com factores ambientais (Gašpić *et al.*, 2002), poderá presumivelmente justificar, por exemplo, os elevados teores de cádmio verificados no peixe-espada-preto em relação a outras espécies estudadas visto esta ser a que se encontra a profundidades maiores.

Observando globalmente os resultados, pode constatar-se também, que o teor destes dois contaminantes é mais elevado no fígado do que no músculo, facto este que está de acordo com o referido por diversos autores em diversas espécies de peixe (Zauke *et al.*, 1999; Mormede & Davies, 2001; Gašpić *et al.*, 2002; Storelli *et al.*, 2005<sup>a</sup>), inclusivamente em peixe-espada-preto e tamboril (Mormede & Davies, 2001).

As elevadas concentrações de metais contaminantes no fígado é atribuída ao facto deste órgão ter um papel importante na destoxificação e acumulação dos mesmos (Mormede & Davies, 2001; Storelli *et al.*, 2005<sup>a</sup>).

No entanto, verificou-se, tal como o observado na maioria das espécies (Gašpić *et al.*, 2002), que a razão entre o teor de Cd no fígado e músculo é maior do que a verificada para o Pb. Estas diferenças na distribuição destes dois metais são originadas por diferentes mecanismos que envolvem o sequestro do metal no organismo do peixe. O cádmio, uma vez absorvido, acumula-se no fígado (Gašpić *et al.*, 2002; Carvalho *et al.*, 2005) devido à sua ligação neste órgão com as metalotioninas, ao passo que para o chumbo não existe nenhuma proteína de baixo peso molecular específica no citosol para o qual este metal tenha grande afinidade (Gašpić *et al.*, 2002). Assim, o chumbo absorvido é rapidamente distribuído por outros tecidos e órgãos (por exemplo os ossos, rim e musculo), não se acumulando no fígado (Gašpić *et al.*, 2002)

Comparando os resultados obtidos com os de outros autores verifica-se que os valores de cádmio e chumbo são semelhantes aos registados em peixe-espada-preto (Mormede & Davies; 2001; Afonso *et al.*, 2007), tamboril, pescada-europeia (Mormede & Davies, 2001) capturados no Atlântico Nordeste (Tabela 41).

Por outro lado, tal como referido por Celik *et al.* (2004), de um modo geral, os teores destes elementos no tecido muscular dos peixes são, em regra, mais elevada nos que provém do Mar Mediterrâneo quando comparados com os obtidos neste trabalho e que foram capturados no Atlântico Nordeste (ao longo da costa portuguesa).

**Tabela 41** – Teores de cádmio e chumbo, expressos em mg/kg, referenciados na literatura.

Espécie <sup>#</sup>	Tecido	Cd (mg/kg)	Pb (mg/kg)	Zona geográfica de captura	Referência
PEP	Músculo	0,01±0,01 <sup>1)</sup> <0,01-0,05 <sup>2)</sup>	0,02±0,03 <0,01-0,10	Atlântico Nordeste (ZEE Madeira)	Afonso <i>et al.</i> , 2007
	Músculo	0,03±0,03 0,01-0,09	0,04±0,02 <0,01-0,07	Atlântico Nordeste (ZEE Açores)	Afonso <i>et al.</i> , 2007
	Músculo	0,004 <sup>a</sup> <0,002-0,017	0,009 <sup>a</sup> <0,002-0,051	Atlântico Nordeste ("Rockall Trough")	Mormede & Davies (2001)
	Fígado	6,98 <sup>a</sup> 2,06-18,24	<0,05 <sup>a</sup> <0,05-0,471	Atlântico Nordeste ("Rockall Trough")	Mormede & Davies (2001)
PEB	Músculo	0,05±0,02 0,03-0,15	0,03±0,01 <LD-0,04	Mar Mediterrâneo (Mar Adriático)	Storelli (2008)
TA	Músculo	<0,00005	0,0020±0,0001 0,0019-0,0021	Atlântico Nordeste (Ilhas "Shetland")	Celik <i>et al.</i> (2004)
	Músculo	<0,00005	0,0030±0,0015 <0,0001-0,0048	Atlântico Nordeste (Ilhas "Faroe")	Celik <i>et al.</i> (2004)
	Músculo	<0,002 <sup>a</sup> <0,002-0,041	<0,002 <sup>a</sup> <0,002-0,041	Atlântico Nordeste ("Rockall Trough")	Mormede & Davies (2001)
	Fígado	0,19 <sup>a</sup> <0,05-1,34	<0,05 <sup>a</sup> <0,05-0,074	Atlântico Nordeste ("Rockall Trough")	Mormede & Davies (2001)
ARE	Músculo	0,06±0,02 0,04-0,08	0,01±0,01 0,01-0,02	Mar Mediterrâneo (Mar Adriático)	Storelli (2008)
	Músculo	0,0022±0,0003 <0,00005-0,0051	0,0035±0,0019 <0,0001-0,0072	Atlântico Nordeste (Região de "Tampen")	Celik <i>et al.</i> (2004)
AQM	Músculo	0,04±0,01 0,03-0,07	0,02±0,01 <LD-0,02	Mar Mediterrâneo (Mar Adriático)	Storelli (2008)
	Músculo	<0,00005	0,0238±0,0009 0,0232-0,0245	Mar Mediterrâneo	Celik <i>et al.</i> (2004)
PE	Músculo	0,04±0,01 0,04-0,08	0,04±0,01 0,02-0,07	Mar Mediterrâneo (Mar Adriático)	Storelli (2008)
	Músculo	<0,05	0,05	-	Martí-Cid <i>et al.</i> (2007)
	Músculo	0,0041-0,0143	0,049-0,141	Mar Mediterrâneo (Mar Adriático)	Gašpić <i>et al.</i> (2002)
	Músculo	0,0022±0,0003 0,0020-0,0024	0,0095±0,0027 0,0076-0,0114	Mar Mediterrâneo	Celik <i>et al.</i> (2004)
	Músculo	0,0017±0,0010 0,0010-0,0024	0,0039±0,0004 0,0036-0,0041	Atlântico Nordeste (Região de "Tampen")	Celik <i>et al.</i> (2004)
	Músculo	0,034 <sup>a</sup> <0,002-0,063	0,008 <sup>a</sup> <0,002-0,047	Atlântico Nordeste ("Rockall Trough")	Mormede & Davies (2001)
	Músculo	-	0,12±0,02 0,11-0,14	Mar Mediterrâneo (Mar Adriático)	Storelli & Marcotrigiano (2000 <sup>b</sup> )
	Músculo	0,2±0,06	1,0±0,1	Mar Mediterrâneo	Karakoltsidis <i>et al.</i> (1995)
Ra	Músculo	0,02-0,03 <sup>b</sup>	0,02-0,03	Mar Mediterrâneo (Mar Adriático)	Storelli (2008)
<i>R.clavata</i>	Músculo	-	0,15±0,08 ND-0,37	Mar Mediterrâneo (Mar Adriático)	Storelli & Marcotrigiano (2000 <sup>b</sup> )
<i>R.clavata</i>	Músculo	0,02±0,02 0,01-0,04	0,03±0,01 0,03-0,04	Mar Mediterrâneo (Mar Adriático)	Storelli (2008)

#: idêntico à Tabela 6; a- mediana; b- variação dos valores médios obtidos; 1) média±desvio padrão; 2) gama de variação; ND – não detectado

Os limites máximos indicados pela Comissão Europeia (UE, 2008) para as espécies estudadas são de 0,05 mg/kg para o cádmio e 0,30 mg/kg para o chumbo. Atendendo às concentrações obtidos para estes dois contaminantes no tecido muscular,

é de salientar que nenhuma das espécies estudadas apresentava concentrações superiores às propostas.

No que respeita ao fígado, tal como no mercúrio, a regulamentação Europeia é omissa, não existindo por isso valores para o teor de cádmio e chumbo nesse órgão.

O comité perito em aditivos alimentares e contaminantes (JEFCA) da FAO/WHO, estabeleceu um PTWI de 7 e 25  $\mu\text{g/kg}$  de peso corporal, respectivamente para o cádmio (WHO, 2003<sup>b</sup>) e chumbo (WHO, 1999).

A dose de ingestão diária ( $\mu\text{g/kg}$  peso corporal) foi calculada com base nos valores médios de cádmio e chumbo obtidos no músculo das espécies estudadas, considerando um adulto de 60 kg e uma ingestão diária de 160 g de peixe (Tabela 42).

De acordo com os valores obtidos quer para o cádmio quer para o chumbo, considera-se que o consumo das espécies estudadas, dificilmente representará um perigo nas condições simuladas.

**Tabela 42** – Concentração média no músculo de cádmio e chumbo, expresso em  $\text{mg/kg}$ , e a dose diária estimada, expressa em  $\mu\text{g/kg}$  peso corporal, para um adulto de 60 kg, considerando um consumo diário de 160 g de peixe.

<b>Espécie<sup>#</sup></b>	<b>Cd</b> ( $\text{mg/kg}$ )	<b>Dose diária estimada de Cd</b> ( $\mu\text{g/kg}$ peso corporal)	<b>Pb</b> ( $\text{mg/kg}$ )	<b>Dose diária estimada Pb</b> ( $\mu\text{g/kg}$ peso corporal)
<b>PEP</b>	0,013	0,035	0,01	0,03
<b>PEB</b>	0,003	0,008	0,02	0,05
<b>TA</b>	0,002	0,005	0,02	0,05
<b>TSP</b>	0,002	0,005	0,02	0,06
<b>ARE</b>	0,002	0,006	0,03	0,09
<b>AQM</b>	0,003	0,009	0,04	0,10
<b>PE</b>	0,016	0,029	0,06	0,16
<b>RA</b>	0,006	0,015	0,03	0,07

<sup>#</sup>: idêntico à Tabela 6

Em relação ao fígado, o PTWI é excedido no caso do cádmio quando são ingerida quantidades de fígado superiores a 120 g, 400 g e mais de 1 kg, respectivamente, no caso do peixe-espada-preto, raias e tamboris, quantidades improváveis tendo em conta os consumos usuais em Portugal. No que respeita ao chumbo, o PTWI aconselhado dificilmente é atingido com a ingestão de fígado das espécies estudadas, não representando por isso nenhum perigo para a saúde do consumidor nas condições simuladas.

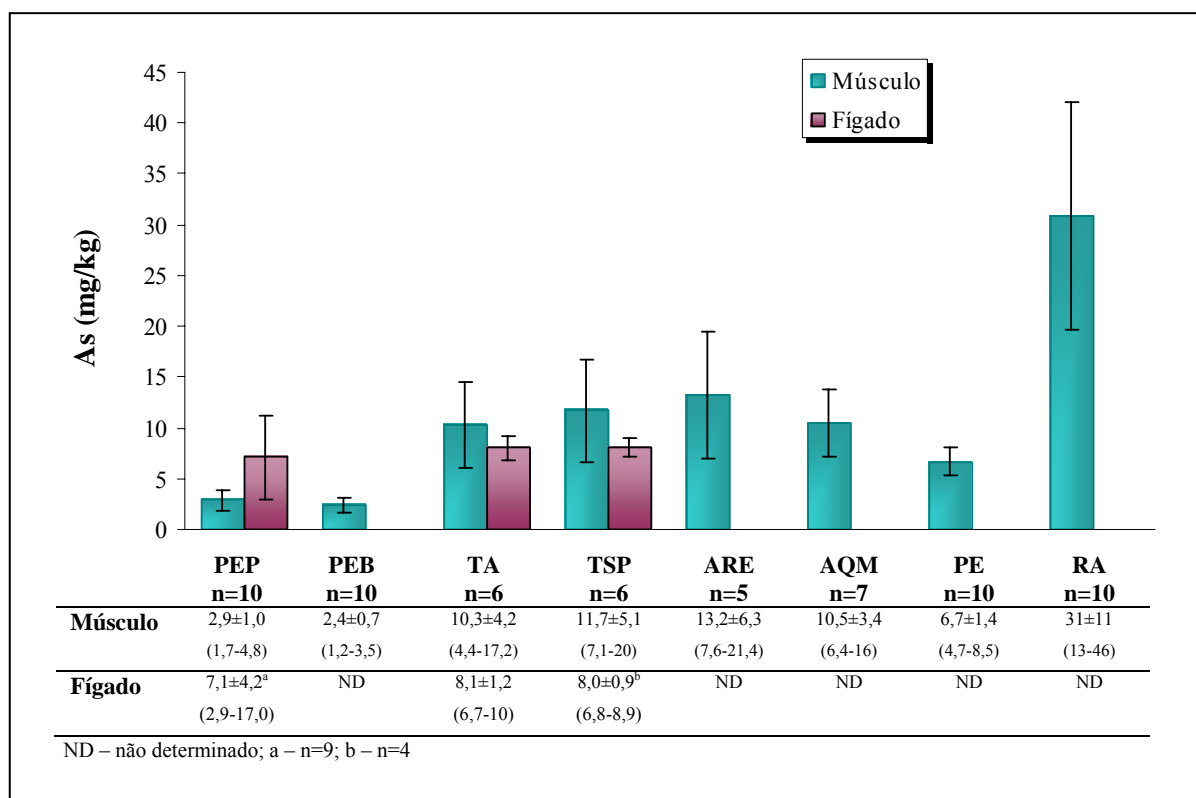
### 3.4.3 Arsénio

No presente trabalho, o teor de arsénio encontrado no músculo e fígado dos peixes variou entre um mínimo de 1,2 mg/kg (peixe-espada-branco) e um máximo de 46 mg/kg (raias), ambos observados no tecido muscular (AxexoIII – Quadro VII).

Através da observação da Figura 25 e Tabela 43 pode-se constatar que as espécies de peixe-espada foram as que apresentaram níveis mais baixos deste contaminante no tecido muscular ( $2,9 \pm 1,0$  e  $2,4 \pm 0,7$  mg/kg, respectivamente para o peixe-espada-preto e peixe-espada-branco) comparativamente com as espécies de areeiro ( $13,2 \pm 6,3$  mg/kg para o areeiro e  $10,5 \pm 3,4$  para o areeiro-de-quatro-manchas), com o tamboril-sovaco-preto ( $11,7 \pm 5,1$  mg/kg) e com a raia ( $31 \pm 11$  mg/kg), tendo o peixe-espada-branco apresentado também concentrações inferiores às verificadas no tamboril ( $10,3 \pm 4,2$  mg/kg).

No fígado o teor de arsénio oscilou entre um mínimo de 2,9 mg/kg e um máximo de 17,0 mg/kg (peixe-espada-preto) não se tendo verificado diferenças entre as espécies (Teste Kruskal-Wallis;  $p > 0,05$ ).

A comparação entre os dois tecidos mostra que a concentração deste elemento foi mais elevada no fígado do peixe-espada-preto (Mann-Whittney's *U*-test;  $p < 0,05$ ) ao passo que nas duas espécies de tamboril não foram verificadas diferenças significativas (Mann-Whittney's *U*-test;  $p > 0,05$ ).



**Figura 25** – Teor de arsénio, expresso em mg/kg (média±desvio padrão), determinado nos tecidos das espécies estudadas.

**Tabela 43** – Resultado do teste estatístico efectuado para a comparação entre espécies (As no músculo das espécies estudadas).

As (Teste Kruskal-Wallis)							
	PEP	PEB	TA	TSP	ARE	AQM	PE
PEB <sup>#</sup>	n.s.						
TA	n.s.	*					
TSP	*	*	n.s.				
ARE	*	*	n.s.	n.s.			
AQM	*	*	n.s.	n.s.	n.s.		
PE	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
RA	***	***	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*

<sup>#</sup>: idêntico à Tabela 6; n.s.- não significativo; \* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\*p<0,001

Foram efectuadas correlações entre os teores de arsénio e os dados biométricos dos peixes, tendo-se verificado que apenas o peixe-espada-branco apresentou correlações significativas entre a concentração deste metalóide no músculo, quer com o comprimento ( $r=0,773$ ;  $p=0,009$ ) quer com o peso ( $r=0,761$ ;  $p=0,011$ ). Num estudo efectuado em tubarões (elasmobrânquios), McMeans *et al.* (2007), não verificaram quais quer correlações entre os dados biométricos e os teores de arsénio.

Tendo em conta os resultados obtidos, verificou-se que as concentrações de arsénio nos dois tecidos analisados são superiores às obtidas para os outros elementos

tóxicos analisados (Hg, Cd e Pb). Este facto foi também referido por outros autores (Storelli *et al.*, 2005<sup>a</sup>).

Tal como nos outros elementos tóxicos estudados, o teor de arsénio nos tecidos do peixe depende de diversos factores intrínsecos e extrínsecos (Mayans *et al.*, 1993; Torreblanca *et al.*, 1993; Handy, 1996; ATSDR, 2007).

Assim, através dos dados obtidos, podemos também constatar que o teor de arsénio nas amostras analisadas variou consideravelmente dentro da mesma espécie de peixe. Como exemplo pode-se referir a raia que apresentou concentrações mínima e máxima, respectivamente, de 13 e 46 mg/kg. Este aspecto foi também focado noutros trabalhos (Storelli & Marcotrigiano, 2000<sup>b</sup>; Storelli *et al.*, 2005<sup>a</sup>; Peshut *et al.*, 2008; Shah *et al.*, 2009).

Estas variações podem ocorrer, por exemplo, devido à biologia característica das espécies, incluindo os locais onde habitam e se alimentam. Tendo em conta esta consideração, Mormede & Davies (2001) fazem referência a um trabalho onde se verificou que a pescada capturada em águas menos profundas apresentava níveis de metais, incluindo o As, mais baixos que a capturada em águas mais profundas, enquanto noutra espécie de pescada foi observado o oposto. Então a diferença entre os teores pode ser explicada pelas diferentes zonas geográficas de captura.

No entanto, é referido por Storelli & Marcotrigiano (2000<sup>b</sup>) que, entre espécies, as bentopelágicas, como as de peixe-espada e pescada, apresentam níveis de arsénio mais baixos que as bentónicas, como as raias, tamboris e areeiros, o que de facto, de uma forma geral, se verificou no presente trabalho. Segundo os mesmos autores este acontecimento é resultado dos diferentes habitats onde vivem os peixe sendo reconhecido que águas perto dos sedimentos (onde habitam as espécies bentónicas) contêm mais arsénio que as de superfície.

Atendendo ao facto de que a biomagnificação não parecer ser relevante no processo de acumulação do arsénio (Mayans *et al.*, 1993; Torreblanca *et al.*, 1993; Handy, 1996; ATSDR, 2007), os peixes predadores carnívoros podem apresentar níveis mais baixos de arsénio comparados com outros organismos marinho (ATSDR, 2007; Peshut *et al.*, 2008).

Por outro lado, alguns autores (Storelli & Marcotrigiano, 2000<sup>b</sup>; Storelli *et al.*, 2005<sup>a</sup>) referem que, os animais que se alimentam de algas e crustáceos, aparentemente, apresentam níveis mais elevados de As que os piscívoros. Tendo em conta que entre,

por exemplo, o areeiro-de-quatro-manchas, que se alimenta preferencialmente de crustáceos, e as espécies de tamboril, que são piscívoras, não foram verificadas diferenças significativas entre o teor de As no tecido muscular, pode sugerir-se que, muito provavelmente, estes teores são influenciados pelo habitat, preferências alimentares, bem como pela actividade metabólica das espécies que por sua vez é influenciada pela taxa de crescimento das espécies.

Diversos autores reportam valores mais elevados deste elemento no fígado comparativamente com o tecido muscular, tal como verificado no peixe-espada-preto, (Storelli *et al.*, 2005<sup>a</sup>; ATSDR, 2007; McMeans *et al.*, 2007). No entanto, como referido, nas duas espécies de tamboril não se verificaram diferenças entre os tecidos no que respeita à concentração de arsénio. Mormede & Davies (2001) observaram, num estudo em espécies de profundidade, que o tamboril apresenta no tecido muscular teores mais elevados de arsénio comparativamente com o fígado e que o peixe-espada-preto apresenta teores mais elevados deste elemento no fígado quando comparado com o do músculo, tal como o verificado no presente estudo.

A este respeito, Shah *et al.* (2009) referem que a distribuição do metal nos diferentes tecidos do peixe depende do modo de exposição. Estes autores verificaram, num estudo efectuado em diversos tecidos (incluindo o músculo e fígado) de peixes de água doce, que o peixe pode apresentar teores mais altos de arsénio no músculo comparativamente com o fígado e vice-versa.

De um modo geral as concentrações obtidas no presente trabalho são da mesma ordem de grandeza das publicadas por outros autores para as mesmas espécies estudadas capturadas no Atlântico Nordeste e Mar Mediterrâneo (Tabela 44).



**Tabela 44** – Teores de arsénio, expressos em mg/kg, referenciados na literatura.

Espécie <sup>#</sup>	Tecido	As (mg/kg)	Zona geográfica de captura	Referência
PEP	Músculo	1,25 < 0,02-26,49 <sup>1)</sup>	Atlântico Nordeste ("Rockall Trough")	Mormede & Davies (2001)
	Fígado	5,45 <0,05-35,79 <sup>2)</sup>	Atlântico Nordeste ("Rockall Trough")	Mormede & Davies (2001)
TA	Músculo	8,63 2,70-21,47	Atlântico Nordeste ("Rockall Trough")	Mormede & Davies (2001)
	Fígado	5,72 1,44-14,33	Atlântico Nordeste ("Rockall Trough")	Mormede & Davies (2001)
ARE	Musculo	42,5±1,3	Mercado espanhol	Lavilla <i>et al.</i> (2008)
PE	Músculo	4	-	Martí-Cid <i>et al.</i> (2007)
	Músculo	1,37 <sup>a</sup> 0,08-3,30	Atlântico Nordeste ("Rockall Trough")	Mormede & Davies (2001)
	Músculo	9,7±3,08 6,15-15,9	Mar Mediterrâneo (Mar Adriático)	Storelli & Marcotrigiano (2000 <sup>b</sup> )
	Musculo	16,0±0,6	Mercado espanhol	Lavilla <i>et al.</i> (2008)
Ra	Músculo	16,4	-	ATSDR, 2007
<i>R. Clavata</i>	Músculo	43,7±9,77 25,6-58,8	Mar Mediterrâneo (Mar Adriático)	Storelli & Marcotrigiano (2000 <sup>b</sup> )

#: idêntico à Tabela 6; a- mediana; 1) gama de variação; 2) média±desvio padrão

O Regulamento Europeu (UE, 2008) que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios é omissos em relação ao teor de arsénio nos peixes. No entanto, a FAO/WHO estabeleceram um PTWI para os adultos de 15 µg/kg de peso corporal para o arsénio inorgânico (Lavilla *et al.*, 2008).

Embora o teor de arsénio inorgânico possa variar com a espécie de peixe (Storelli & Marcotrigiano, 2000<sup>b</sup>), atendendo ao facto de na literatura este teor representar, no máximo, cerca de 10 % do arsénio total (ATSDR, 2007), esta percentagem será usada para estimar o teor de arsénio inorgânico no peixe e a partir deste a dose diária de ingestão, para um adulto de 60 kg e uma refeição de 160 g de peixe.

Através da observação da Tabela 45 sugere-se que as raias sejam consumidas no máximo apenas uma vez por semana enquanto que as outras espécies (tamboris e areeiros) podem ser consumidas até quatro vezes por semana (cerca de 640 g de peixe).

**Tabela 45** – Concentração média de arsénio total ( $As_T$ ) e inorgânico ( $As_{Inorg}$ ) no músculo, expresso em mg/kg, e a dose diária estimada, expressa em  $\mu\text{g/kg}$  peso corporal, para um adulto de 60 kg e considerando um consumo de 160 g de peixe.

<b>Espécie<sup>#</sup></b>	<b><math>As_T</math> (mg/kg)</b>	<b><math>As_{Inorg}</math> (mg/kg)</b>	<b>Dose diária estimada de <math>As_{Inorg}</math> (<math>\mu\text{g/kg}</math> peso corporal)</b>
<b>PEP</b>	2,9	0,3	0,8
<b>PEB</b>	2,4	0,2	0,6
<b>TA</b>	10,3	1,0	2,8
<b>TSP</b>	11,7	1,2	3,1
<b>ARE</b>	13,2	1,3	3,5
<b>AQM</b>	10,5	1,0	2,8
<b>PE</b>	6,7	0,7	1,8
<b>RA</b>	30,8	3,1	8,2

<sup>#</sup>: idêntico à Tabela 6

No que respeita ao fígado a dose máxima, estabelecida para o arsénio inorgânico é excedida em quantidades acima dos 1 kg de fígado, e tal como já referido, estas quantidades são improváveis tendo em conta os consumos usuais em Portugal

#### 3.4.4 Elementos tóxicos e o sexo

Atendendo ao facto de alguns autores (Monteiro & Lopes, 1990; Monteiro *et al.*, 1991; Caurant *et al.*, 1994; Richard *et al.*, 2000; Celik *et al.*, 2004; Eisler, 2006; Branco *et al.*, 2007; Seixas *et al.*, 2007) referirem que o sexo dos animais pode influenciar, ou não, a bioacumulação e/ou bioconcentração de alguns elementos contaminantes, foram efectuados testes estatísticos (paramétricos, *T* de Student, ou não paramétricos, Mann-Whitney's *U*-test) de modo a verificar se nas espécies estudadas esse era um factor determinante.

Muito embora o número de machos e/ou fêmeas ser limitativo em algumas espécies (por exemplo a amostra de areeiro era apenas composta por machos ou indivíduos onde não foi possível identificar o sexo), em regra, não foram encontradas diferenças entre o sexo e o teor dos diferentes elementos tóxicos encontrados em ambos os tecidos estudados ( $p > 0,05$ ). Desta forma, este factor não foi considerado como relevante na acumulação dos elementos tóxicos estudados.

### 3.5 Informação nutricional e toxicológica

#### **PEIXE-ESPADA-PRETO**

(*Aphanopus carbo*)



	Média	Mínimo	Máximo
Comprimento (cm)	108±9	88	122
Peso (g)	1783±503	940	3050

#### **Informação Nutricional**

Dose/160 g

		Dose	% DDR
<b>Calorias</b>	kcal	136	
Calorias Gordura	kcal	18	
Calorias Proteína	kcal	118	
<b>Gordura</b>	g	2,00	
AG Saturados	g	0,42	
AG Monoinsaturados	g	1,22	
AG Polinsaturados	g	0,39	
AG n-3	g	0,30	
AG n-6	g	0,08	
EPA	g	0,04	
DHA	g	0,21	
Colesterol	mg	23,8	
<b>Proteína</b>	g	29,4	61,3*
<b>Vitamina E</b>	mg	2,54	16,9
* Considerando uma RDA de 0,8 g por peso corporal (IOM, 2005) e um adulto de 60 kg			
<b>Elementos essenciais</b>			
Potássio	mg	474,5	10,1
Sódio	mg	251,0	20,9
Cloro	mg	194,8	10,8
Enxofre	mg	198,7	24,8
Magnésio	mg	44,8	14,4
Cálcio	mg	19,0	1,9
Zinco	mg	0,47	5,8
Cobre	mg	0,02	2,4
Ferro	mg	0,24	3,0
Manganês	mg	0,02	1,3
Selênio	mg	0,07	134,7

DDR – Dose diária recomendada; RDA – Ingestão alimentar recomendada

#### **Informação Toxicológica**

Dose/160 g

		Dose	% PTWI**
<b>Elementos tóxicos</b>			
Mercúrio total	mg	0,10	33,8
Mercúrio orgânico	mg	0,08	85,0
Cádmio	mg	0,002	0,5
Chumbo	mg	0,002	0,1
Arsênio total	mg	0,46	
Arsênio inorgânico	mg	0,05	5,3

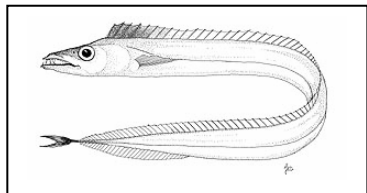
\*\* % PTWI – percentagem de ingestão semanal tolerável provisória (considerando um adulto de 60 kg)

#### **Benefício**

Baixo teor em gordura e colesterol e boa fonte de selênio

#### **Perigo**

Não deve ser consumido mais de 1 vez por semana (mercúrio orgânico)

**PEIXE-ESPADA-BRANCO***(Lepidopus caudatus)*

	Média	Mínimo	Máximo
Comprimento (cm)	132±14	115	154
Peso (g)	1702±637	950	2740

**Informação Nutricional**

Dose/160 g

		Dose	% DDR
<b>Calorias</b>	kcal	118	
Calorias Gordura	kcal	6	
Calorias Proteína	kcal	112	
<b>Gordura</b>	g	0,63	
AG Saturados	g	0,14	
AG Monoinsaturados	g	0,14	
AG Polinsaturados	g	0,18	
AG n-3	g	0,15	
AG n-6	g	0,02	
EPA	g	0,03	
DHA	g	0,10	
Colesterol	mg	25,4	
<b>Proteína</b>	g	28,0	58,4*
<b>Vitamina E</b>	mg	0,26	1,7
* Considerando uma RDA de 0,8 g por peso corporal (IOM, 2005) e um adulto de 60 kg			
<b>Elementos essenciais</b>			
Potássio	mg	582	12,4
Sódio	mg	149	12,4
Cloro	mg	181	10,1
Enxofre	mg	206	25,8
Magnésio	mg	40	12,8
Cálcio	mg	13,2	1,3
Zinco	mg	0,45	5,6
Cobre	mg	0,02	2,3
Ferro	mg	0,38	4,8
Manganês	mg	0,04	2,2
Selênio	mg	0,06	108,8

DDR – Dose diária recomendada; RDA – Ingestão alimentar recomendada

**Informação Toxicológica**

Dose/160 g

		Dose	% PTWI**
<b>Elementos tóxicos</b>			
Mercúrio total	mg	0,09	28,6
Mercúrio orgânico	mg	0,07	77,5
Cádmio	mg	<0,001	0,1
Chumbo	mg	0,003	0,2
Arsênio total	mg	0,38	
Arsênio inorgânico	mg	0,03	4,0

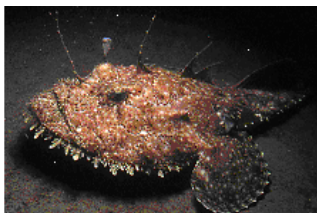
\*\* % PTWI – percentagem de ingestão semanal tolerável provisória (considerando um adulto de 60 kg)

**Benefício**

Baixo teor em gordura e colesterol e boa fonte de selênio

**Perigo**

Não deve ser consumido mais de 1 vez por semana (mercúrio orgânico)

**TAMBORIL***(Lophius piscatorius)*

	Média	Mínimo	Máximo
Comprimento (cm)	73±12	55	95
Peso (g)	6018±3168	2286	12100

**Informação Nutricional**

Dose/160 g

		Dose	% DDR
<b>Calorias</b>	kcal	115	
Calorias Gordura	kcal	4	
Calorias Proteína	kcal	111	
<b>Gordura</b>	g	0,46	
AG Saturados	g	0,10	
AG Monoinsaturados	g	0,08	
AG Polinsaturados	g	0,14	
AG n-3	g	0,12	
AG n-6	g	0,02	
EPA	g	0,02	
DHA	g	0,09	
Colesterol	mg	29,7	
<b>Proteína</b>	g	27,9	58,0*
<b>Vitamina E</b>	mg	0,23	1,5
* Considerando uma RDA de 0,8 g por peso corporal (IOM, 2005) e um adulto de 60 kg			
<b>Elementos essenciais</b>			
Potássio	mg	411	8,7
Sódio	mg	314	26,1
Cloro	mg	191	10,6
Enxofre	mg	195	24,4
Magnésio	mg	42	13,6
Cálcio	mg	14,8	1,5
Zinco	mg	0,77	9,6
Cobre	mg	0,04	4,3
Ferro	mg	0,32	3,9
Manganês	mg	0,02	0,9
Selênio	mg	0,04	81,6

DDR – Dose diária recomendada; RDA – Ingestão alimentar recomendada

**Informação Toxicológica**

Dose/160 g

		Dose	% PTWI**
<b>Elementos tóxicos</b>			
Mercurio total	mg	0,05	17,8
Mercurio orgânico	mg	0,03	34,4
Cádmio	mg	<0,001	0,1
Chumbo	mg	0,003	0,2
Arsênio total	mg	1,65	
Arsênio inorgânico	mg	0,16	18,7

\*\* % PTWI – percentagem de ingestão semanal tolerável provisória (considerando um adulto de 60 kg)

**Benefício**

Baixo teor em gordura e colesterol e boa fonte de selênio

**Perigo**

Não deve ser consumido mais de 3 vez por semana (mercúrio orgânico)

**TAMBORIL-SOVACO-PRETO***(Lophius budegassa)*

	Média	Mínimo	Máximo
Comprimento (cm)	49±9	40	73
Peso (g)	1938±1276	950	5324

**Informação Nutricional**

Dose/160 g

		Dose	% DDR
<b>Calorias</b>	kcal	118	
Calorias Gordura	kcal	4	
Calorias Proteína	kcal	114	
<b>Gordura</b>	g	0,41	
AG Saturados	g	0,08	
AG Monoinsaturados	g	0,05	
AG Polinsaturados	g	0,12	
AG n-3	g	0,09	
AG n-6	g	0,02	
EPA	g	0,01	
DHA	g	0,07	
Colesterol	mg	25,8	
<b>Proteína</b>	g	28,6	59,6*
<b>Vitamina E</b>	mg	0,12	0,8
* Considerando uma RDA de 0,8 g por peso corporal (IOM, 2005) e um adulto de 60 kg			
<b>Elementos essenciais</b>			
Potássio	mg	476	10,1
Sódio	mg	264	22,0
Cloro	mg	194	10,8
Enxofre	mg	221	27,6
Magnésio	mg	44	14,1
Cálcio	mg	15,7	1,6
Zinco	mg	0,66	8,3
Cobre	mg	0,04	4,9
Ferro	mg	0,35	4,3
Manganês	mg	0,03	1,8
Selênio	mg	0,10	180,4

DDR – Dose diária recomendada; RDA – Ingestão alimentar recomendada

**Informação Toxicológica**

Dose/160 g

		Dose	% PTWI**
<b>Elementos tóxicos</b>			
Mercúrio total	mg	0,08	25,6
Mercúrio orgânico	mg	0,10	105,6
Cádmio	mg	<0,001	0,1
Chumbo	mg	0,003	0,2
Arsênio total	mg	1,87	
Arsênio inorgânico	mg	0,19	20,7

\*\* % PTWI – percentagem de ingestão semanal tolerável provisória (considerando um adulto de 60 kg)

**Benefício**

Baixo teor em gordura e colesterol e boa fonte de selênio

**Perigo**

Não deve ser consumido mais de 1 vez por semana (mercúrio orgânico)

**AREEIRO***(Lepidorhombus whiffiagonis)*

	Média	Mínimo	Máximo
Comprimento (cm)	41±6	31	47
Peso (g)	561±243	236	788

**Informação Nutricional**

Dose/160 g

		Dose	% DDR
<b>Calorias</b>	kcal	144	
Calorias Gordura	kcal	22	
Calorias Proteína	kcal	122	
<b>Gordura</b>	g	2,50	
AG Saturados	g	0,57	
AG Monoinsaturados	g	0,80	
AG Polinsaturados	g	0,60	
AG n-3	g	0,52	
AG n-6	g	0,08	
EPA	g	0,09	
DHA	g	0,34	
Coolesterol	mg	32,9	
<b>Proteína</b>	g	30,5	63,5*
<b>Vitamina E</b>	mg	2,26	15,1
* Considerando uma RDA de 0,8 g por peso corporal (IOM, 2005) e um adulto de 60 kg			
<b>Elementos essenciais</b>			
Potássio	mg	443	9,4
Sódio	mg	248	20,6
Cloro	mg	181	10,0
Enxofre	mg	243	30,4
Magnésio	mg	60	19,4
Cálcio	mg	23	2,3
Zinco	mg	0,55	6,8
Cobre	mg	0,02	2,3
Ferro	mg	0,23	2,9
Manganês	mg	0,01	0,6
Selênio	mg	0,06	104,5

DDR – Dose diária recomendada; RDA – Ingestão alimentar recomendada

**Informação Toxicológica**

Dose/160 g

		Dose	% PTWI**
<b>Elementos tóxicos</b>			
Mercúrio total	mg	0,06	21,2
Mercúrio orgânico	mg	0,06	60,0
Cádmio	mg	<0,001	0,1
Chumbo	mg	0,005	0,4
Arsênio total	mg	2,11	
Arsênio inorgânico	mg	0,21	23,3

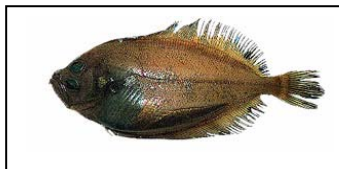
\*\* % PTWI – percentagem de ingestão semanal tolerável provisória (considerando um adulto de 60 kg)

**Benefício**

Baixo teor em gordura e colesterol e boa fonte de selênio

**Perigo**

Não deve ser consumido mais de 1 vez por semana (mercúrio orgânico)

**AREEIRO-DE-QUATRO-MANCHAS***(Lepidorhombus boscai)*

	Média	Mínimo	Máximo
Comprimento (cm)	26±3	22	33
Peso (g)	157±62	74	341

**Informação Nutricional**

Dose/160 g

		Dose	% DDR
<b>Calorias</b>	kcal	144	
Calorias Gordura	kcal	10	
Calorias Proteína	kcal	135	
<b>Gordura</b>	g	1,12	
AG Saturados	g	0,23	
AG Monoinsaturados	g	0,23	
AG Polinsaturados	g	0,28	
AG n-3	g	0,23	
AG n-6	g	0,06	
EPA	g	0,05	
DHA	g	0,14	
Colesterol	mg	38,4	
<b>Proteína</b>	g	33,6	70,1*
<b>Vitamina E</b>	mg	0,35	2,3
* Considerando uma RDA de 0,8 g por peso corporal (IOM, 2005) e um adulto de 60 kg			
<b>Elementos essenciais</b>			
Potássio	mg	429	9,1
Sódio	mg	323	26,9
Cloro	mg	247	13,7
Enxofre	mg	288	36,1
Magnésio	mg	70	22,5
Cálcio	mg	62	6,2
Zinco	mg	0,61	7,7
Cobre	mg	0,03	3,7
Ferro	mg	0,40	5,0
Manganês	mg	0,02	1,0
Selênio	mg	0,07	130,2

DDR – Dose diária recomendada; RDA – Ingestão alimentar recomendada

**Informação Toxicológica**

Dose/160 g

		Dose	% PTWI**
<b>Elementos tóxicos</b>			
Mercúrio total	mg	0,05	17,4
Mercúrio orgânico	mg	0,07	69,4
Cádmio	mg	<0,001	0,1
Chumbo	mg	0,006	0,4
Arsênio total	mg	1,68	
Arsênio inorgânico	mg	0,16	18,7

\*\* % PTWI – percentagem de ingestão semanal tolerável provisória (considerando um adulto de 60 kg)

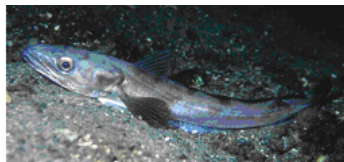
**Benefício**

Baixo teor em gordura e colesterol e boa fonte de selênio

**Perigo**

Não deve ser consumido mais de 1 vez por semana (mercúrio orgânico)



**PESCADA-EUROPEIA***(Merluccius merluccius)*

	Média	Mínimo	Máximo
Comprimento (cm)	41±14	12	62
Peso (g)	660±503	10	1496

**Informação Nutricional**

Dose/160 g

		Dose	% DDR
<b>Calorias</b>	kcal	134	
Calorias Gordura	kcal	10	
Calorias Proteína	kcal	123	
<b>Gordura</b>	g	1,12	
AG Saturados	g	0,36	
AG Monoinsaturados	g	0,34	
AG Polinsaturados	g	0,38	
AG n-3	g	0,34	
AG n-6	g	0,04	
EPA	g	0,08	
DHA	g	0,24	
Colesterol	mg	23,9	
<b>Proteína</b>	g	30,9	64,3*
<b>Vitamina E</b>	mg	0,05	0,3
* Considerando uma RDA de 0,8 g por peso corporal (IOM, 2005) e um adulto de 60 kg			
<b>Elementos essenciais</b>			
Potássio	mg	562	12,0
Sódio	mg	350	29,2
Cloro	mg	213	11,9
Enxofre	mg	234	29,3
Magnésio	mg	59	18,9
Cálcio	mg	34	3,4
Zinco	mg	0,54	6,7
Cobre	mg	0,05	5,5
Ferro	mg	0,62	7,8
Manganês	mg	0,02	1,0
Selênio	mg	0,05	83,9

DDR – Dose diária recomendada; RDA – Ingestão alimentar recomendada

**Informação Toxicológica**

Dose/160 g

		Dose	% PTWI**
<b>Elementos tóxicos</b>			
Mercúrio total	mg	0,03	11,4
Mercúrio orgânico	mg	0,04	38,1
Cádmio	mg	0,003	0,4
Chumbo	mg	0,010	0,6
Arsênio total	mg	1,07	
Arsênio inorgânico	mg	0,11	12,0

\*\* % PTWI – percentagem de ingestão semanal tolerável provisória (considerando um adulto de 60 kg)

**Benefício**

Baixo teor em gordura e colesterol e boa fonte de selênio

**Perigo**

Não deve ser consumido mais de 2 vez por semana (mercúrio orgânico)

**RAIAS***(Raja spp)*

	Média	Mínimo	Máximo
Comprimento (cm)	67±12	52	87
Peso (g)	2201±1216	925	4500

**Informação Nutricional**

Dose/160 g

		Dose	% DDR
<b>Calorias</b>	kcal	133	
Calorias Gordura	kcal	4	
Calorias Proteína	kcal	129	
<b>Gordura</b>	g	0,39	
AG Saturados	g	0,09	
AG Monoinsaturados	g	0,05	
AG Polinsaturados	g	0,13	
AG n-3	g	0,10	
AG n-6	g	0,02	
EPA	g	0,01	
DHA	g	0,08	
Colesterol	mg	33,6	
<b>Proteína</b>	g	32,3	67,3*
<b>Vitamina E</b>	mg	0,10	0,7
* Considerando uma RDA de 0,8 g por peso corporal (IOM, 2005) e um adulto de 60 kg			
<b>Elementos essenciais</b>			
Potássio	mg	522	11,1
Sódio	mg	207	17,3
Cloro	mg	247	13,7
Enxofre	mg	321	40,1
Magnésio	mg	43	13,7
Cálcio	mg	23	2,3
Zinco	mg	0,64	8,0
Cobre	mg	0,03	3,0
Ferro	mg	0,45	5,7
Manganês	mg	0,04	2,1
Selênio	mg	0,05	84,0

DDR – Dose diária recomendada; RDA – Ingestão alimentar recomendada

**Informação Toxicológica**

Dose/160 g

		Dose	% PTWI**
<b>Elementos tóxicos</b>			
Mercúrio total	mg	0,04	13,0
Mercúrio orgânico	mg	0,03	35,6
Cádmio	mg	0,001	0,2
Chumbo	mg	0,005	0,3
Arsênio total	mg	4,93	
Arsênio inorgânico	mg	0,50	54,7

\*\* % PTWI – percentagem de ingestão semanal tolerável provisória (considerando um adulto de 60 kg)

**Benefício**

Baixo teor em gordura e colesterol e boa fonte de selênio

**Perigo**

Não deve ser consumido mais de 1 vez por semana (arsênio inorgânico)

## 4 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem retirar as seguintes conclusões:

As oito espécies estudadas pertencem ao conjunto das espécies magras ou pouco gordas, são ricas em proteína e apresentam baixo valor energético, padrão que as torna interessantes sob o ponto de vista nutricional. Todavia, verificaram-se diferenças entre as várias espécies e mesmo entre exemplares da mesma espécie, facto que resulta de diversos factores. À excepção do peixe-espada-branco, não foram encontradas correlações significativas entre os dados biométricos e os principais constituintes (humidade, gordura, proteína e cinza).

A maioria das espécies apresenta uma percentagem de ácidos gordos polinsaturados mais elevada que a de monoinsaturados e saturados. No entanto, foram verificadas algumas excepções como é o caso do areeiro e peixe-espada-preto, nos quais a percentagem de monoinsaturados era mais elevada. Nesta última espécie, para além da elevada percentagem de 18:1n-9 também se verificaram valores apreciáveis de 20:1 e 22:1. Os ácidos gordos polinsaturados predominantes eram do tipo n-3 e constituíram cerca de 80 % do total de polinsaturados. O teor médio mais elevado de EPA e DHA, expresso em mg/100g, foi encontrado no areeiro quando comparado com o de outras espécies (peixe-espada-branco, tamboril-sovaco-preto e raia).

Os parâmetros nutricionais revelaram que todas as espécies estudadas apresentam uma boa qualidade no que respeita à fracção lipídica bem como um baixo teor de colesterol sendo, por isso, o seu consumo considerado benéfico.

O teor de  $\alpha$ -tocoferol era baixo e muito variável no tecido muscular da maioria das espécies, no entanto, o peixe-espada-preto constitui um bom contributo para a dose diária recomendada.

Dos macroelementos, o potássio era o mais abundante (superior a 2153 mg/kg) seguido do sódio, cloro, enxofre, magnésio e cálcio. O teor de cloro foi semelhante entre espécies e rondou os 1300 mg/kg. No que respeita ao sódio, o peixe-espada-branco

salientou-se por ter apresentado a concentração mais baixa. No fígado observou-se um padrão diferente conforme a espécie.

O microelemento mais abundante foi o zinco, tendo as espécies que habitam fundos arenosos e lamacentos, como os tamboris, areeiros e raias, apresentado os teores mais elevados deste mineral. Considerando globalmente os resultados obtidos, constata-se que o fígado contém teores mais elevados de microelementos em relação aos existentes no músculo. Para a maioria dos elementos verificou-se uma diminuição em função da idade.

Considerando os valores médios para os diferentes elementos no músculo e uma refeição constituída por 160 g, conclui-se que o selénio satisfaz a dose diária recomendada. No que respeita ao fígado devem ser evitados consumos diários superiores a 60 g no caso do peixe-espada-preto, na medida em que o teor de selénio pode exceder o nível máximo de ingestão tolerável estabelecido para este elemento.

Em regra, não foram verificadas diferenças para o teor dos elementos tóxicos em função do sexo.

No que respeita ao mercúrio total, nem sempre os teores encontrados no fígado foram superiores aos do músculo. Os valores mais elevados foram observados no peixe-espada-preto, todavia, verificaram-se diferenças apreciáveis entre exemplares. Observou-se ainda que cerca de 90 % do mercúrio total no músculo se encontrava sob a forma orgânica. No fígado essa percentagem era variável. Os resultados obtidos sugerem também uma acumulação com a longevidade. Por outro lado, a comparação dos dados obtidos com resultados de outras áreas geográficas (Arquipélagos da Madeira e Açores e Mar Adriático), sugere uma contaminação menor da costa continental portuguesa. É ainda de salientar que, numa base molar, a relação Se:Hg era, em média, superior a 2. Alguns dos exemplares estudados, peixe-espada-branco (20 %), peixe-espada-preto (8 %), tamboril-sovaco-preto (5 %), pescada-europeia (3 %) e areeiro-de-quatro-manchas (2 %), continham valores superiores aos valores máximos legislados pela UE. Considerando um peso corporal de 60 kg e uma ingestão de 160 g de parte edível, as espécies estudadas devem ser consumidas com moderação, isto é, não mais do que uma vez por semana, principalmente o tamboril-sovaco-preto, as duas espécies de

peixe-espada e os areeiros. No caso do fígado, os PTWI estabelecidos para o mercúrio, só serão excedidos para consumos considerados improváveis.

De acordo com os resultados obtidos para o cádmio e chumbo, atendendo aos valores legislados e PTWI recomendados, considera-se que o consumo destas espécies não representa perigo para o consumidor.

Considerando que, no máximo, cerca de 10 % do arsénio se apresenta sob a forma inorgânica na fracção edível do peixe, sugere-se que um adulto com uma massa corporal de 60 kg não deverá consumir mais de 1 refeição (160 g) de raia por semana e não exceder 4 no caso dos tamboris e areeiros. O fígado não representa um perigo para a saúde do consumidor nas condições simuladas.

Estes resultados sugerem que o consumo destas espécies, num quadro de uma alimentação diversificada, não constitui um perigo para a população e podem continuar a fazer parte não só da gastronomia tradicional mas também serem usadas como matéria-prima da “nouvelle cuisine”.

## 5 REFERÊNCIAS

- Ackman, R.G., 1995. Composition and nutritive value of fish and shellfish lipids. *In*: A. Ruiter (Ed.), *Fish and fishery products composition, nutritive properties and stability*, Cab International, Wallingford, UK, pp. 117- 157.
- Afonso, C., Lourenço, H.M., Abreu Dias, Nunes, M.L., Castro, M., 2007. Contaminant metals in black scabbard fish (*Aphanopus carbo*) caught off Madeira and Azores. *Food Chemistry*, 101: 120-125.
- Agusa, T., Kunito, T., Yasunaga, G., Iwata, H., Subramanian, A., Ismail, A., Tanabe, S., 2005. Concentrations of trace elements in marine fish and its risk assessment in Malaysia. *Marine Pollution Bulletin*, 51: 896-911.
- Alemany, M., Remesar, X., 1993. Introduccion. Concepto de oligoelemento. *In*: A. Mas, J.M. Azcue (Eds.), *Metales en sistemas biológicos*, PPU, S.A., Barcelona, pp. 5-25.
- Al-Ghais, S.M., 1995. Heavy metal concentrations in the tissue of *Sparus sarba* Forskål, 1775 from the United Arab Emirates. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 55: 581-587.
- Alves, C.L., Wood, C.M., 2006. The chronic effects of dietary lead in freshwater juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed elevated calcium diets. *Aquatic Toxicology*, 217-232.
- Amlund, H., Lundebye, A.-K., Berntssen, M.H.G., 2007. Accumulation and elimination of methylmercury in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) following dietary exposure. *Aquatic Toxicology*, 83: 323-330.
- Andersen, J.L., Depledge, M.H., 1997. A survey of total mercury and methylmercury in edible fish and invertebrates from Azorean waters. *Marine Environmental Research*, 44(3): 331-350.
- AOAC, 1998. Nitrogen (total) in seafood (940.25). *In*: Official Methods of Analysis, 16<sup>th</sup>, 4<sup>th</sup> revision, Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- Artemis, P., Simopoulos, M.D., 1997. Nutritional aspects of fish. *In*: J.B. Luten, T. Børresen, J. Oehlenschläger (Eds.), *Seafood from producer to consumer, integrated approach to quality*, Elsevier Science, B.V., Amsterdam, pp. 589-607.

- ATSDR, 2007. Toxicological profile for arsenic. Agency for toxic substances & disease registry. Atlanta, Georgia, 500 p.
- ATSDR, 2008<sup>a</sup>. Toxicological profile for lead. Agency for toxic substances & disease registry. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp13-c6.pdf> (acedido em Outubro de 2008).
- ATSDR, 2008<sup>b</sup>. Draft Toxicological profile for cadmium. Agency for toxic substances & disease registry. Atlanta, Georgia, 512 p.
- Azcue, J.M., 1993 Contaminación por efecto de la actividad humana. In: A. Mas, J.M. Azcue (Eds), *Metales en sistemas biológicos*, PPU, S.A., Barcelona, pp. 275-296.
- Baeyens, W., Leermakers, M., Papina, T., Saprykin, A., Brion, N., Noyen, J., Gieter, M.D., Elskens, M., Goeyens, L., 2003. Bioconcentration and biomagnification of mercury and methylmercury in North Sea and Scheldt estuary fish. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 45: 498-508.
- Balshaw, S., Edwards, J.W., Ross, K.E., Daughtry, B.J., 2008. Mercury distribution in the muscular tissue of farmed southern bluefin tuna (*Thunnus maccoyii*) is inversely related to the lipid content tissues. *Food Chemistry*, 111: 616-621.
- Ballantyne, B., Marres, T., Turner, P., 1995. General & Applied toxicology. Abridged edition, London.
- Bandarra, N.M., Nunes, M.L., Campos, R.M., Batista, I., 1992. Valorização sazonal dos lípidos em sardinha *Sardina pilchardus*. Relatórios técnicos e científicos INIP, Lisboa, 54, 19 p.
- Bandarra, N.M., Batista, I., Nunes, M.L., 2001. O óleo de sardinha e a saúde. IPIMAR Divulgação, Lisboa, 18.
- Bandarra, N. M., Batista, I. , Tafula, J. , Nunes, M.L., 2002. Valor nutricional de produtos da pesca In : Produtos da pesca. Qualidade, segurança e inovação tecnológica. Actas das Jornadas Técnicas e científicas do IPIMAR. Publicações Avulsas do IPIMAR, Lisboa, 9: 75-88.
- Bandarra, N.M., Calhau, M.A., Oliveira, L., Ramos, M., Dias, M.G., Bártolo, H., Faria, M.R., Fonseca, M.C., Gonçalves, J., Batista, I., Nunes, M.L., 2004. Composição e valor nutricional dos produtos da pesca mais consumidos em Portugal. Publicações Avulsas do IPIMAR, Lisboa, 11, 103 p.

- Barghigiani, C., Ristori, T., Biagi, F., De Ranieri, S., 2000. Size related mercury accumulations in edible marine species from an area of the northern Tyrrhenian Sea. *Water, Air, and soil pollution*, 124: 169-176.
- Barstad, H., Alvik, A.C., Løvaas, E., 2006. Antioxidant synergy effect between  $\alpha$ -tocopherol and ascorbate on the autoxidation of liposomes. In: J.B. Luten, C. Jacobsen, K. Bekaert, A. Saebø, J. Oehlenschläger (Eds.), *Seafood research from fish to dish. Quality, safety and processing of wild and farmed fish*, Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, pp. 87-94.
- Bebianno, M.J., Santos, C., Canário, J., Gouveia, N., Sena-Carvalho, D., Vale, C., 2007. Hg and metallotionein-like proteins in the black scabbardfish *Aphanopus carbo*. *Food and Chemical Toxicology*, 45: 1443-1452.
- Belitz, H., Grosch, W., 1999. Food Chemistry. Springer, Germany, 992 p.
- Belitz, H.-D., Grosch, W., Schieberle, P., 2004. Food Chemistry. Springer-Verlag, Berlin, 1070 p.
- Bligh, E., Dyer, W., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal Biochemistry and Physiology*, 37: 911-917.
- Branco, V., Vale, C., Canário, J., Santos, M.N., 2007. Mercury and selenium in blue shark (*Prionace glauca*, L. 1758) and Swordfish (*Xiphias gladius*, L. 1558) from two areas of Atlantic Ocean. *Environmental Pollution*, 150: 373-380.
- Bruce, Å., Elvingsson, P., Malmheden-Yman, I., Slorach, S., 1997. Coordination of nutritional, health risk and fair trading aspects of fish and fish products for human consumption. The experience of the Swedish national food administration. In: J.B. Luten, T. Børresen, J. Oehlenschläger (Eds.), *Seafood from producer to consumer, integrated approach to quality*, Elsevier Science, B.V, Amsterdam, pp. 621-632.
- Burger, J., Gochfeld, M., 2005. Heavy metals in commercial fish in New Jersey. *Environmental Research*, 99: 403-412.
- Bustamante, P., Bocher, P., Chérel, Y., Miramand, P., Caurant, F., 2003. Distribution of trace elements in the tissues of benthic and pelagic fish from the Kerguelen Islands. *The Science of the Total Environment*, 313: 25-39.
- Cabañero, A.I., Madrid, Y., Câmara, C., 2004. Selenium and mercury bioaccessibility in fish samples: an in vitro digestion method. *Analytica Chimica Acta*, 526: 51-61.



- Cahu, C., Salen, P., Lorgeril, M., 2004. Farmed and wild fish in the prevention of cardiovascular diseases: Assessing possible differences in lipid nutritional values. *Nutrition Metabolism & Cardiovascular Diseases*, 14: 34-41.
- Canli, M., Kalay, M., Ay, Ö., 2001. Metal (Cd, Pb, Cu, Zn, Fe, Cr, Ni) concentrations in tissues of a fish *Sardina pilchardus* and a *Peaenus japonicus* from three stations on the Mediterranean Sea. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 67: 75-82.
- Capelli, R., Das, K., Pellegrini, R.D., Drava, G., Lepoint, G., Miglio, C., Minganti, V., Poggi, R., 2008. Distribution of trace elements in organs of six species of cetaceans from the Ligurian Sea (Mediterranean), and the relationship with stable carbon and nitrogen ratios. *Science of the Total Environment*, 390: 569-578.
- Caruso, J.H., 1986. Lophiidae. In: P.J.P. Whiehead, M.-L. Bauchot, J.-C. Hureau, J. Nielsen & E. Tortonese (Eds.), *Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean*, UNESCO, Paris, pp. 1362-1363.
- Carvalho, M.L., Pereira, R.A., Brito, J., 2002. Heavy metals in soft tissues of *Tursiops truncatus* and *Delphinus delphis* from west Atlantic Ocean by X-ray spectrometry. *The Science of the Total Environment*, 292: 247-254.
- Carvalho, M.L., Santiago, S., Nunes, M.L., 2005. Assessment of the essential element and heavy metal content f edible fish muscle. *Analytical Bioanalytical Chemistry*, 382: 426-432.
- Carvalho, C.M.L., Matos, A.I.N.M., Mateus, M.L., Santos, A.P.M., Bartoréu, M.C.C., 2008. High-fish consumption and risk prevention: assessment of exposure to methylmercury in Portugal. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 71: 1279-1288.
- Castro-Gonzálvez, M.I., Méndez-Armenta, M., 2008. Heavy metals: Implications associated to fish consumption, Mini-review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 26: 263-271.
- Causeret, J., 1962. Fish as a source of mineral nutrition. In: G. Borgstrom (Ed), *Fish as food*, Academic Press, NY, pp. 205-234.
- Çelik, U., Oehlenschläger, J., 2004. Determination of zinc and copper in fish samples collected from Northeast Atlantic by DPSAV. *Food Chemistry*, 87: 343-347.

- Celik, U., Cakli, S., Oehlenschläger, J., 2004. Determination of the lead and cadmium burden in some northeastern Atlantic and Mediterranean fish species by DPSAV. *European Food Research and Technology*, 218: 298-305.
- Çelik, U., Oehlenschläger, J., 2005. Zinc and copper content in marine fish samples collected from the eastern Mediterranean Sea. *European Food Research and Technology*, 220: 37-41.
- Çelik, U., Oehlenschläger, J., 2007. High contents of cadmium, lead, zinc and copper in popular fishery products sold in Turkish supermarkets. *Food Control*, 18: 258-261.
- CEN, 2003. European Standard EN 14084. Foodstuffs – Determination of trace elements – Determination of lead, cadmium, zinc, copper and iron by atomic absorption spectrometry (AAS) after microwave digestion. CEN-European Committee for Standardization, 16 p.
- Chang, L.W., Cockerham, L., 1994. Toxic metals in the environment. In: L.G. Cockerham and B.S. Shane (Eds.), *Basic environmental toxicology*, CRC Press, Boca Raton, pp. 109-129.
- Christie, W.W., 2008. The lipid library em [www.lipidlibrary.co.uk](http://www.lipidlibrary.co.uk) (acedido em Julho de 2008).
- Cichon, R., 2003. Fish lipids. In: Z.E. Sikorski & A. Kołakowska (Eds.), *Chemical and functional properties of food lipids*, CRC Press, NY, pp. 189-204.
- Cohen, Z., Von Shik, A., Richmond, A., 1988. Effect of environmental conditions on fatty acid composition of the red algae *Porphyridium cruentum*: correlation to growth rate. *Journal of Phycology*, 24: 328-332.
- Cronin, M., Davies, I.M., Newton, A., Pirie, J.M., Topping, G., Swan, S., 1998. Trace metal concentrations in deep sea fish from the north Atlantic. *Marine Environmental Research*. 45(5): 225-238.
- Custódio, P.J., Carvalho, M.L., Nunes, F., Pedroso, S., Campos, A., 2005. Direct analysis of human blood (mothers and newborns) by energy dispersive X-ray fluorescence (EDXRF). *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 19 (2-3): 151-158.

- Dallinger, R., 1995<sup>a</sup>. Mechanisms of metal incorporation into cells. *In*: M.P. Cajaraville (Ed.), *Cell Biology in environmental toxicology*, Universidad del Pais Vasco, Bilbao, pp. 135-154.
- Dallinger, R., 1995<sup>b</sup>. Metabolism and toxicity of metals: metallothioneins and metal elimination. *In* M.P. Cajaraville (Ed.), *Cell Biology in environmental toxicology*, Universidad del Pais Vasco, Bilbao, pp. 171-190.
- Dalman, Ö., Demirak, A., Balci, A., 2006. Determination of heavy metals (Cd, Pb) and trace elements (Cu, Zn) in sediments and fish of the Southeastern Aegean Sea (Turkey) by atomic absorption spectrometry. *Analytical, Nutritional and clinical Methods*, 95: 157-162.
- Darzen, J.C., 2007. Depth related trends in proximate composition of demersal fishes in the eastern North Pacific. *Deep-Sea Research*, 54: 203-219.
- De Silva, S.S., Anderson, T.A., 1995. Fish nutrition in aquaculture. Chapman and Hall, London, 319 p.
- DeForest, D.K., Brix, K.V., Adams, W.J., 2007. Assessing metal bioaccumulation in aquatic environments: The inverse relationship between bioaccumulation factor, trophic transfer factor and exposure concentration. *Aquatic Toxicology*, 84: 236-246.
- Demestre, M. , Molí, B. , Recasens, L. , Sánchez, P., 1993. Life history and fishery of *Lepidopus caudatus* (Pisces: Trichiuridae) in the Catalan Sea (Northwestern Mediterranean). *Marine Biology*, 115: 23-32.
- Department of Health. 1994. Nutritional aspects of cardiovascular disease: Health and Social Subjects. HMSO, London, 14.
- Depledge, M.H., Weeks, J.M., Frias Martins, A., Tristao da Cunha, R., Costa, A., 1992. The Azores: Exploitation and pollution of the coastal ecosystem (Review). *Marine Pollution Bulletin*, 24(9): 433-435.
- Depledge, M.H., Weeks, J.M., Bjerregaard P., 1994. Heavy metals. *In*: P. Calow (ed.), *Handbook of ecotoxicology*, Blackwell scientific publications, pp. 79-105.
- DGPA, 2007<sup>a</sup>. Plano estratégico nacional para a pesca 2007-2013. MADRP – Direcção Geral das Pescas e Aquicultura. 84 p.

- DGPA, 2007<sup>b</sup>. Programa operacional pesca 2007-2013. Direcção Geral das Pescas e Aquicultura, 98 p.
- DGPA, 2007<sup>c</sup>. Recursos da Pesca - Série estatística. Vol .20 A-B. Direcção Geral das Pescas e Aquicultura. 167 p.
- Domingo, J.L., Bocio, A., Falcó, G., Llobet, J.M., 2007. Benefits and risks of fish consumption Part I. A quantitative analysis of the intake of omega-3 fatty acids and chemical contaminants. *Toxicology*, 230: 219-226.
- Duarte, R., Azevedo, M., Landa, J. Pereda, P., 2001. Reproduction of anglerfish (*Lophius budegassa* Spinola and *Lophius piscatorius* Linnaeus) from the Atlantic Iberian coast. *Fisheries Research*, 51: 349-361.
- Eisler, R., 2006. Mercury hazards to living organisms. Taylor & Francis group, CCR press, Boca Raton, 312 p.
- Elvevoll, E.O., Eilertsen, K-E., Brox, J., Dragnes, B.T., Falkenberg, P., Olsen, J.O., Kirkhus, B., Lamglait, A., Østerud, B., 2008. Seafood diets: Hypolipidemic and antiatherogenic effects of taurine and n-3 fatty acids. *Atherosclerosis*, 200(2): 396-400.
- EPA, 1998. Test method 7473: Mercury in solids and solutions by thermal decomposition, amalgamation and atomic absorption spectrometry. SW-846, Environment Protection Agency, USA, 14 p.
- Fabris, G., Turoczy, N.J., Stagnitti, F., 2006. Trace metal concentration in edible tissue of snapper, flathead, lobster, and abalone from coastal waters of Victoria, Australia. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 63: 286-292.
- Falch, E., Øverby, A., Rustad, T., 2006. Natural antioxidants in cod liver oil: Pitfalls during oxidative stability assessment. In: J.B. Luten, C. Jacobsen, K. Bekaert, A. Saebø, Oehlenschläger (Eds.), *Seafood research from fish to dish. Quality, safety and processing of wild and farmed fish*, Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, pp. 127-136.
- FAO, 1989. Yield and nutritional value of the commercially more important fish species. Vol. 309, FAO Fisheries Technical Papers, 187 p.
- FAO, 2007. FAO Yearbook. Fishery Statistics. Commodities/FAO. Vol. 101, Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 237 p.

- Farkas, A., Salanki, J., Specziár, A., 2003. Age- and size-specific patterns of heavy metals in the organs of freshwater fish *Abramis brama* L. populating a low-contaminated site. *Water Research*, 37: 959-964.
- Favier J. C. , Ireland-Ripert J. , Toque C. , Feinberg M., 1995. Répertoire général des aliments- table de composition. INRA editions, Paris, 897 p.
- Fenton, D.E., 1997. Biocoordination chemistry. Oxford University Press, Oxford.
- Fernandes, A. M. 1984. Estudo preliminar da dinâmica da população de *Aphanopus carbo* Lowe, 1839, (peixe espada preto), no Arquipélago da Madeira. Faculdade de Ciências de Lisboa. Relatório de estágio (*In: Martins et al.*, 1989).
- Figueiredo, I., Bordalo-Machado, P., Reis, S., Sena-Carvalho, D., Blasdale, A., Newton, A. Gordo, L.S., 2003. Observation on the reproductive cycle of the black scabbardfish (*Aphanopus carbo* Lowe, 1839) in the NE Atlantic. *ICES Journal of Marine Science*, 60: 774-779.
- Fishbase, 2008. [www.fishbase.com](http://www.fishbase.com) (acedido em Maio de 2008).
- Francesconi, K.A., Lenanton, R.C.J., 1992. Mercury contamination in a semi-enclosed marine embayment: organic and inorganic mercury content of biota and factors influencing mercury levels in fish. *Marine Environmental Research*, 33: 189-212.
- Fraústo da Silva, J.J.R., 1985. Introdução à Química da Vida. Faculdade de Ciências de Lisboa, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa.
- Fremy, J-M, Bordet, F, 2002. Evaluation of consequences on human health related to the occurrence of contaminants in seafood. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 153(11) 7351-740.
- Gaggi, C., Zino, F., Duccini, M., Renzoni, A., 1996. Levels of mercury in scalp hair of fishermen and their families from Camara de Lobos-Madeira (Portugal): Preliminary study. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 56: 860-865.
- Gailer, J., 2007. Arsenic-selenium and mercury-selenium bonds in biology. *Coordination Chemistry Reviews*, 251: 234-254.

- Gallagher, M.J., Nolan, C.P., Jeal, F., 2005. Age, growth and maturity of the commercial ray species from the Irest Sea. *Journal of Northwest Atlantic Fish Science*, 35: 47-66.
- García-Montelongo, F., Días, C., Galindo, L., Larrechi, M.S., Rius, X., 1994. Heavy metals in tree fish species from the coastal waters of Santa Cruz de Tenerife (Canary Islands). *Scientia Marina*, 58(3): 179-183.
- Gašpić, Z.K., Zvonarić, T., Vrgoč, N., Odžak, N., Barić, A., 2002. Cadmium and lead in selected tissues of two commercially important fish species from Adriatic Sea. *Water Research*, 36: 5023-5028.
- Godinho, M.L., Afonso, M.H., Morgado, C., 2001. Age and growth of hake *Merluccius merluccius* Linnaeus, 1758 from the Northeast Atlantic (ICES division IXa). *Boletín Instituto Español de Oceanografía*, 17(3 e 4): 255-262.
- Goering, P.L., Waalkes, M.P., Klaassen, C.D., 1995. Toxicology of cadmium. In: R. Goyer, G. Cherian, (Eds.), *Toxicology of metals*, Springer-Verlag. Handb. Exp. Pharm. 115, pp. 163-180.
- Goyer, R.A., 1996. Toxic effects of metals. In: C.D. Klaassen (Ed.), *Casarett and Doull's Toxicology: The basic science of poisons*, McGraw-Hill, NY, pp. 691-736.
- Goyer, R.A., 1997. Toxic and essential metal interactions. *Annual Review of Nutrition*, 17: 37-50
- Goyer, R.A., Clarkson, T.W., 2001. Toxic effects of metals. In: C.D. Klaassen (Ed.), *Casarett and Doull's Toxicology: The basic science of poisons*, McGraw-Hill, NY, pp. 811 -867.
- Grag, A.N., Ramakrishna, V.V.S., 2006. Fish as an indicator of aquatic environment: Multielemental neutron activation analysis of nutrient and pollutant elements in fish from Indian coastal areas. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 88(1): 125-140.
- Guia Relacre 13, 2000. Validação de métodos internos de ensaios em análise química. Relacre, Lisboa.
- Haard, N.F., 1995. Composition and nutritive value of fish proteins and other nitrogen compounds. In: A. Ruiter (Ed), *Fish and fishery products. Composition, nutritive properties and stability*, Cab International, Wallingford, pp. 77-107.

- Hajeb, P., Jinap, S., Ismail, A., Fatimah, A.B., Jamilah, B., Rahim, M.A., 2009. Assessment of mercury levels in commonly consumed marine fishes in Malaysia. *Food Control*, 20: 79-84.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1996. Free radicals in biology and medicine. Clarendon Press, Oxford.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 2007. Free radicals in biology and medicine. Oxford University press Inc, NY, 851 p.
- Hamada, R., Osame, M., 1996. Minamata disease and other mercury syndromes. In: L.W. Chang (Ed.), *Toxicology of metals*, CRC Lewis Publishers, Boca Raton, pp. 337-351.
- Handy, R.D., 1996. Dietary exposure to toxic metals in fish. In: E.W. Taylor (Ed.), *Toxicology of aquatic pollution – physiological, molecular and cellular approaches*, Great Britain, pp. 28-60.
- Hellou, J., Warren, W.G., Payne, J.F., Belkhode, S., Lobel, P., 1992. Heavy metals and other elements in three tissues of cod, *Gadus morhua* from the Northwest Atlantic. *Marine Pollution Bulletin*, 24(9): 452-458.
- Huss, H.H., 1995. Quality and quality changes on fresh fish. FAO Fisheries Technical paper - 348. FAO, Rome. 203 pp.
- Huynh, M.D., Kitts, D.D., Hu, C., Trites, A.W., 2007. Composition of fatty acid profiles of spawning and non-spawning Pacific herring, *Clupea harengus pallasi*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 146: 504-511.
- ICES, 2007. Report of the Working Group on the Assessment of Southern Shelf Stocks of Hake, Monk and Megrin (WGHMM), 8-17 may 2007. ICES CM 2007/ACFM :21, Vigo, Spain, 700 p.
- ICES, 2008. [www.ices.dk](http://www.ices.dk) (acedido em Maio de 2008).
- INE, 2008<sup>a</sup>. [www.ine.pt](http://www.ine.pt). (acedido em Julho de 2008).
- INE, 2008<sup>b</sup>. Estatísticas da pesca 2007. Instituto Nacional de Estatística, 97 p.
- INSA, 2006. Tabela da composição de alimentos. Centro de Segurança Alimentar e Nutrição INSA (Eds.). Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, Lisboa, 355p.

- IOM, 2000. Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoides. National Academic Press, Washington (DC), 509 p.
- IOM, 2001. Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. National Academic Press, Washington (DC), 773 p.
- IOM, 2004. Dietary reference intakes for water, potassium, sodium, chloride, and sulfate. National Academic Press, Washington (DC), 618 p.
- IOM, 2005. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids. National Academic Press, Washington (DC), 1131 p.
- IPQ, 1988. NP 2032 – Pescado: Determinação do teor de cinza. Instituto Português da Qualidade, 4 p.
- IPQ, 1991. NP 2282 – Pescado: Determinação do teor de humidade. Instituto Português da Qualidade, 4 p.
- IPQ, 1992. NP 1972 – Pescado: Determinação do teor de matéria gorda livre. Instituto Português da Qualidade, 4 p.
- ISO 5725, 1994. Accuracy (Trueness and Precision) of measurement methods and results (part 1, 2, 3, 4, 5, 6).
- ISSFAL, 2004. Recommendations for intake of polyunsaturated fatty acids in healthy adults. International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids, 22 p.
- Jensen, K.N., Jacobsen, C., Nielsen, H.H., 2007. Fatty acid composition of herring (*Clupeia harengus* L.): influence of time and place of catch on n-3 PUFA content. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87: 710-718.
- Jodral-Segado, A.M., Navarro-Alarcón, M., López-G de La Serrana, H., López-Martinez, M.C., 2003. Magnesium and calcium contents in foods from SE Spain: influencing factors and estimation of daily dietary intakes. *The Science of the Total Environment*, 312:47-58.
- Jorhem, L., 2000. Determination of metals in food by atomic absorption spectrometry after dry ashing: NMKL Collaborative study. *Journal Association of Official Analytical Chemists International*, 83(5): 1204-1211.



- Karakoltsidis, P.A., Zotos, A., Constantinides, S.M., 1995. Composition of the commercially important finfish, crustaceans, and molluscs. *Journal of Food Composition and Analysis*, 8: 258-273.
- Khan, A.T., Weis, J.S., 1993. Bioaccumulation of heavy metals in two population of Mummichog (*Fundulus heteroclitus*). *Bulletin Environnemental Contamination Toxicology*, 51: 1-5.
- Kořakowska, A., Olley, J., Dunstan, G., 2003. Fish lipids. In: Z.E. Sikorski, A. Kořakowska (Eds.), *Chemical and functional properties of food lipids*, CRC Press, NW, pp. 221-264.
- Kořakowska, A., Sikorski, Z.E., 2003. The role of lipids in food quality. In: Z.E. Sikorski, A. Kořakowska (Eds), *Chemical and functional properties of food lipids*, CRC Press, NY, pp. 1-8.
- Kosanovic, M., Hasan, M.Y., Subramanian, D. Ahbabi, A.A.F.A., Kathiri, O.A.A.A., Aleassa, E.M.A.A., Adem, A., 2007. Influence of urbanization of the western coast of the United Arab Emirates on trace metal content in muscle and liver of wild red-spot emperor (*Lethrinus lentjan*). *Food and Chemical Toxicology*, 45: 2261-2266.
- Kotsonis, F.N., Burdock, G.A., Flamm, W.G., 2001. Food toxicology. In: C.D. Klaassen (ed.), *Casarett and Doull's Toxicology: The basic science of poisons*, McGraw-Hill, NY, pp. 1049 -1088.
- Krummel, D.A., 2008. Medical nutrition therapy for cardiovascular disease. In: L.K. Mahan, S. Escott-Stump (Eds), *Krause's Food & Nutrition Therapy*, Elsevier, Canada, pp. 833-865.
- Kuhnlein, H.V., Barthelet, V., Farren, A., Falahi, E., Legge, D., Receveur, O., Berti, P., 2006. Vitamins A, D, and E in Canadian Arctic traditional food and adult diets. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 495-506.
- Lall, S.P., 1995. Macro and trace elements in fish and shellfish. In: A. Ruiter (Ed.), *Fish and fishery products. Composition, nutritive properties and stability*, Cab International, Wallingford, pp. 187-213.
- Lall, S.P., Parazo, M.P., 1995. Vitamins in fish and shellfish. In: A. Ruiter (Ed.), *Fish and fishery products. Composition, nutritive properties and stability*, Cab International, Wallingford, pp 157-186.

- Landa, J., Pereda, P., Duarte, R., Azevedo, M., 2001. Growth of anglerfish (*Lophius piscatorius* and *L. budegassa*) in Atlantic Iberian waters. *Fisheries Research*, 51: 363-376.
- Landa, J., Pérez, N. Piñeiro, C., 2002. Growth patterns of four spot megrim (*Lepidorhombus boscii*). *Fisheries Research*, 55: 141-152.
- Landa, J., Piñeiro, C., Pérez, N., 1996. Megrim (*Lepidorhombus whiffiagonis*) growth patterns in the northeast Atlantic. *Fisheries Research*, 26: 79-294.
- Landa, J., Piñeiro, C., 2000. Megrim (*Lepidorhombus whiffiagonis*) growth patterns in the northeast Atlantic based on back-calculation of otolith rings. *Journal of Marine Science*, 57: 1077-1090.
- Lavilla, I., Vilas, P., Bendicho, C., 2008. Fast determination of arsenic, selenium, nickel and vanadium in fish and shellfish by electrothermal atomic absorption spectrometry following ultrasound-assisted extraction. *Food Chemistry*, 106: 403-409.
- Leite, A.M., 1989. The deep-sea fishery of the black scabbard fish *Aphanopus carbo* Lowe, 1839 in Madeira Island waters. In: *Proc. 1988 World Symp. Fishing Gear. Fishing Vessel design*, St. John's, NF, Canada, pp. 240-243.
- Lemly, A.D., 2002. Symptoms and implications of selenium toxicity in fish: the Belews lake case exemple. *Aquatic Toxicology*, 57: 39-49.
- Lepage, G., Roy, C.C., 1986. Direct transesterification of all classes of lipids in a one step reaction. *Journal of Lipid Research*, 27: 114-120.
- Li, W., Wei, C., Zhang, C., Hulle, M.V., Cornelis, R., Zhang, X., 2003. A survey of arsenic species in Chinese seafood. *Food and Chemical Toxicology*, 41: 1103–1110
- Lichtenstein, A.H., Appel, L.J., Brands, M., Carnethon, M., Daniels, S., Franch, H.A., Franklin, B., Kris-Etherton, P., Harris, W.S., Howard, B., Karanja, N., Lefevre, M., Rudel, L., Sacks, F., Horn, L.V., Winston, M., Judith Wylie-Rosett, J., 2006. Diet and lifestyle recommendations revision 2006: A scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee. *Circulation*, 114: 82–96.
- Lytle, J.S., Lytle, T.F., 1994. Fatty acid and cholesterol content of sharks and rays. *Journal of food composition analysis*, 7: 110-118 (In: Oehlenschläger , 2006).

- Machado, P.B, Figueiredo, I., 2000. Tubarões e raias recursos de importância crescente. IPIMAR Divulgação. 11.
- Machado, P.B., Gordo, L.S., Figueiredo, I., 2004. Skate and ray species composition in mainland Portugal from the commercial landings. *Aquatic Living Resources*, 17: 231-234.
- Magalhães, M.C., Costa, V., Menezes, G.M., Pinho, M.R., Santos, R.S., Monteiro, L.R., 2007. Intra- and inter-specific variability in total and methylmercury bioaccumulation by eight marine fish species from the Azores. *Marine Pollution Bulletin*, 54: 1654-1662.
- Martí-Cid, R., Bocio, A., Llobet, J.M., Domingo, J.L., 2007. Intake of chemical contaminants through fish and seafood consumption by children of Catalonia, Spain: health risks. *Food and Chemical Toxicology*, 45: 1968-1974.
- Martínez-Valverde, I., Periago, M.J., Santaella, M., Rós, R., 2000. The content and nutritional significance of mineral on fish flesh in the presence and absence of bone. *Food Chemistry*, 71: 503-509.
- Martins, M.R., Martins, M.M., Cardador, F., 1989. Portuguese fishery of black scabbard fish (*Aphanopus carbo* Lowe, 1839) off Sesimbra waters. ICES, CM-1989/G:38 (mimeo).
- Mas., A., 1993. Elementos esenciales. In: A. Mas, J.M. Azcue (Eds.), *Metales en sistemas biológicos*, PPU, S.A., Barcelona, pp. 105-141.
- Mas, A., Arola, Ll., 1993. Conceptos generales del metabolismo de metales. In: A. Mas, J.M. Azcue (Eds.), *Metales en sistemas biológicos*, PPU, S.A., Barcelona, pp. 71-103.
- Mas, A., Romeu-Moreno, A., Arola, Ll., 1993. Interacciones entre metales y biomoléculas. In: A. Mas, J.M. Azcue (Eds.), *Metales en sistemas biológicos*, PPU, S.A., Barcelona, pp. 47-70.
- Mathew, S., Ammu, P.G., Nair, V., Devadasan., 1999. Cholesterol content of Indian fish and shellfish. *Food Chemistry*, 66: 455-461.
- Mayans, J.D., Torreblanca, A., Ramo, J., 1993. Presencia de metales en medio acuático. In: A. Mas, J.M. Azcue (Eds.), *Metales en sistemas biológicos*, PPU, S.A., Barcelona, pp. 187-206.

- McDonald, P., Edwards, R.A., Greenhalgh, J.F.D., Morgan, C.A., 2002. Animal nutrition. Prentice Hall, England, 693 p.
- McMeans, B.C., Borgå, K., Bechtol, W.R., Higginbotham, D., Fisk, A.T., 2007. Essential and non-essential element concentrations in two sleeper shark species collected in arctic waters. *Environmental Pollution*, 148: 281-290.
- Miura, K., Naganuma, A., Himeno, S., Imura, N., 1995. Mercury toxicology. In: R. Goyer, G. Cherian (Ed.), Toxicology of metals. Handbook of Experimental Pharmacology, Springer-Verlag., Berlin, pp. 163-180.
- Mnari, A., Bouhlele, I., Chraief, I., Hammami, M., Romdhane, M.S., Cafsi, M.E., Chaouch, A., 2007. Fatty acids in muscles and liver of Tunisian wild and farmed gilthead sea bream, *Sparus aurata*. *Food Chemistry*, 100: 1393-1397.
- Monteiro, L.R., Lopes, H., 1990. Mercury content of swordfish, *Xiphias gladius*, in relation to length, weight, age, and sex. *Marine Pollution Bulletin*, 21(6): 293-296.
- Monteiro, L.R., Isidro, E.J., Lopes, H.D., 1991. Mercury content in relation to Sex, size, age and growth in two scorpionfish (*Helicolenus dactylopterus* and *Pontinus Kuhii*) from azorean waters. *Water, Air, and Pollution*, 56: 359-367.
- Morales-Nin, B., Sena-Carvalho, D., 1996. Age and growth of the black scabbard fish (*Aphanopus carbo*) off Madeira. *Fisheries Research*, 25: 239-251.
- Morales-Nin, B., Canha, Â., Casas, M., Figueiredo, I., Gordo, L.S., Gordon, J.D.M., Gouveia, E., Piñeiro, C.G., Reis, S., Reis, A., Swan, S.C., 2002. Intercalibration of age readings of deepwater black scabbardfish, *Aphanopus carbo* (Lowe, 1839). *ICES Journal of Marine Science*, 59: 352-364.
- Mormede, S., Davies, I.M.C., 2001. Heavy metal concentrations in commercial deep-sea fish from the Rockall Trough. *Continental Shelf Research*, 21: 899-916.
- Moura, O., Cardador, F., Figueiredo, I., 2006. Pescada, lagostim e peixe-espada-preto situações e medidas de gestão para 2006. IPIMAR Divulgação, 33.
- Mourente, G., Bell, J.G., Tocher, D.R., 2007. Does dietary tocopherol level affect fatty acid metabolism. *Fish Physiology and Biochemistry*, 33: 269-280.

- Murata, K., Weihe, P., Renzoni, A., Debes, F., Vasconcelos, R., Zino, F., Araki, S., Jørgensen, P.J., White, R.F., Grandjean, P., 1999. Delayed evoked potentials in children exposed to methylmercury from seafood. *Neurotoxicology and Teratology*, 21(4): 343-348.
- Muus, B.J., Nielsen, J.G., Dahlstrom P., Nyström, B.O., 1998. Guia de identificación peces de mar del Atlántico y del Mediterráneo. Ediciones Omega, S. A., Barcelona.
- Naemmi, E.D., Ahmad, N., Al-Sharrah, T.K., Behbahani, M., 1995. Rapid and simple method for determination of cholesterol in processed food. *Journal Association of Official Analytical Chemists*, 78: 1522-1525.
- Nakao, M., Seoka, M., Tsukamasa, Y., Kawasaki, K.I., Ando, M., 2007. Possibility for decreasing of mercury content in bluefin tuna *Thunnus orientalis* by fish culture. *Fisheries Science*, 73: 724-731 (In : Balshaw *et al.*, 2008).
- Navarro-Pedreño, J., Gómez, I., Mataix, J., 1993. Ciclos biogeoquímicos de oligoelementos metálicos. In: Metales en sistemas biológicos. A. Mas and J.M. Azcue (eds.). PPU, S.A., Barcelona, pp. 297-324.
- Nielsen, J.G., 1986. Cithanidae. In: P.J.P. Whiehead, M.-L. Bauchot, J.-C. Hureau, J. Nielsen, E. Tortonese (Eds.), *Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean*. UNESCO, Paris, pp. 1287-1294.
- Nogala-Kałucka, M.E., 2003. Fat-soluble vitamins. In: Z.E. Sikorski, A. Kołakowska, (Eds.), *Chemical and functional properties of food lipids*, CRC Press, NY, pp. 109-128.
- Nriagu, J.O., 1993. Prologo. In: A. Mas, J.M. Azcue (Eds.), *Metales en sistemas biológicos*, PPU, S.A., Barcelona, pp. 1-4.
- Nunes, M.L., Bandarra, N.M., Batista, I., 2003. Fish products: contribution for a healthy food. *Electronic Journal of Environmental Agriculture Food Chemistry*. ISSN 1579-4377: 453-457.
- Nunes, M.L., Bandarra, N., Oliveira, L., Batista, I., Calhau, M.A., 2006 Composition and nutritional value of fishery products consumed in Portugal. In: J.B. Luten, C. Jacobsen, K. Bekaert, A. Saebø, J. Oehlenschläger (Eds.), *Seafood research from fish to dish. Quality, safety and processing of wild and farmed fish*, Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, pp. 477-487.

- O'Brien, G., Jolley, D., Morrison, J., 2006. Evolution of chemical contaminant and toxicology studies, part 2 – case studies of selenium and arsenic. *South Pacific Journal of Natural Science*, 21: 6-14.
- Oehlenschläger, J., 1997. Marine fish – A source for essential elements?! In: J.B. Luten, T. Børresen, J. Oehlenschläger (Eds.), *Seafood from producer to consumer, integrated approach to quality*, Elsevier Science B.V., Amsterdam, pp. 641-651.
- Oehlenschläger, J., 2000. Cholesterol content in edible part of marine fatty pelagic fish species and other seafood. In: S.A. Georgakis (ed.), *Proceedings 29<sup>th</sup> WEFTA Meeting 1999*, Greek Society of food Hygienists and Technologist, Pieria, Greece, pp. 107-115.
- Oehlenschläger, J., 2006. Cholesterol content in seafood, data from the last decade: A review. In: J.B. Luten, C. Jacobsen, K. Bekaert, A. Saebø, J. Oehlenschläger (Eds.), *Seafood research from fish to dish. Quality, safety and processing of wild and farmed fish*, Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, pp. 41-57.
- Økland, H.M.W., Stoknes, I.S., Remme, J.F., Kjerstad, M., Synnes, M., 2005. Proximate composition, fatty acid and lipid class composition of the muscle from deep-sea teleosts and elasmobranchs. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 140: 437-443.
- Osman, H., Suriah, A.R., Law, E.C., 2001. Fatty acid composition and cholesterol content of selected marine fish in Malaysian waters. *Food Chemistry*, 73: 55-60.
- Özogul, Y., Özogul, F., 2007. Fatty acid profiles of commercially important fish species from the Mediterranean, Aegean and Black Seas. *Food Chemistry*, 100: 1634–1638.
- Özogul, Y., Özogul, F., Alagoz, S., 2007. Fatty acid profiles and fat contents of commercially important seawater and freshwater fish species of Turkey: A comparative study. *Food Chemistry*, 103: 217-223.
- Parazo, M.P.M., Lall, S.P., Castell, J.D., Ackman, R.G., 1998. Distribution of  $\alpha$ -tocopherols and  $\gamma$ -tocopherols in Atlantic salmon (*Salmo salar*) tissues. *Lipids*, 33 (7): 697-704.
- Parin, N.V., 1986. Trichiuridae. In: P.J.P. Whiehead, M.-L. Bauchot, J.-C. Hureau, J. Nielsen, E. Tortonese (Eds.), *Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean*, UNESCO, Paris, pp. 976-980.

- Peraza, A.M., Ayala-Fierro, F., Barber, D.S., Casarez, E. Rael, L., 1998. Effects of micronutrients on metal toxicity. *Environmental Health Perspectives*, 106(Supp.1): 1-27.
- Peshut, P.J., Morrison, R.J., Brooks, B., 2008. Arsenic speciation in marine fish and shellfish from American Samoa. *Chemosphere*, 71: 484-492.
- Piironen, V., Varo, P., Syvaioja, E-L, Salminen, K, Kpivistoinen., 1984. High-performance liquid chromatographic determination of tocopherol and tocotrienols and its application to diets and plasma of Finnish men. *International Journal Vitamin and Nutrition Research*, 53: 35-40.
- Piironen, V., Toivo, J., Lampi, A.-M., 2002. New data for cholesterol contents in meat, fish, milk, eggs and their products consumed in Finland. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15: 705-713.
- Pigott, G.M., Tucker, B.W., 1990. Seafood: effects of technology on nutrition. Marcel Dekker Inc, NY.
- Piñeiro, C., Sainza, M., 2003. Age estimation, growth and maturity of the European hake *Merluccius merluccius* (Linnaeus, 1758) from Iberian Atlantic waters. *ICES Journal of Marine Science*, 60: 1086-1102.
- Plessi, M., Bertelli, D., Monzani, A., 2001. Mercury and selenium content in selected seafood. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 495-467.
- Polak-Juszczak, L., 1997. The assessment of the hazard of contamination with heavy metals to consumers health based on monitoring research on the quality of Baltic fish and their products. *Bulletin of the Sea Fisheries Institute*, 1(140): 49-57.
- Popov, P.A., Androsova, N.V., Anoshin, G.N., 2002. Accumulation and distribution of heavy and transition metals in fish of the Novosibirsk water reservoir. *Journal of Ichthyology*, 42: 264-270.
- Pryor, W., 2000. Vitamin E and heart disease: Basic science to clinical intervention trials. *Free Radical Biology & Medicine*, 28(1): 147 – 164.
- Ramo, J., Torreblanca, A., Mayans, J.D., 1993. Toxicidad de los metales. In: A. Mas, J.M. Azcue (eds.), *Metales en sistemas biológicos*, PPU, S.A., Barcelona, pp. 143-162.

- Rao, M.V., Sharma, P.S.N., 2001. Protective effect of vitamin E against mercuric chloride reproductive toxicity in male mice. *Reproductive Toxicology*, 15: 705-712.
- Raymond, L.J., Ralston, N.V.C., 2004. Mercury: selenium interactions and health implications. *Seychelles Medical and Dental Journal*, 7(1): 72-77.
- Régine, M.-B., Gilles, D., Yannick, D., Alain, B., 2006. Mercury distribution in fish organs and food regimes: significant relationships from twelve species collected in French Guiana (Amazonian basin). *Science of the Total Environment*, 368: 262-270.
- Remme, J.F., Larssen, W.E., Bruheim, I., Saebø, P.C., Saebø, A., Stoknes, I.S., 2006. Lipid content and fatty acid distribution in tissues from Portuguese dogfish, leafscale gulper shark and black dogfish. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 143: 459-464.
- Renzoni, A., Zino, F., Franchi, E., 1998. Mercury levels along the food chain and risk for exposed populations. *Environmental Research*, 77, 68-72.
- Richard, S., Arnoux, A., Cerdan, F., Reynouard, C., Horeau, V., 2000. Mercury levels of soils, sediments and fish in French Guiana, South America. *Water, Air and Soil Pollution*, 124: 221-244.
- Riisgård, H.U., Hansen, S., 1990. Biomagnification of mercury in a marine grazing food-chain: algal cells *Phaeodactylum tricornutum*, mussels *Mytilus edulis* and flounders *Platichthys flesus* studied by means of a stepwise-reduction –CVAA method. *Marine Ecology Progress series*, 62: 259-270.
- Rodriguez, I.B., Raber, G., Goessler, W., 2009. Arsenic speciation in fish sauce samples determined by HPLC coupled to inductively coupled plasma mass spectrometry. *Food Chemistry*, 112: 1084-1087.
- Ruiter, A., 1995. Contaminants in fish. In: A. Ruiter (ed.), *Fish and fishery products composition, nutritive properties and stability*, Cab internacional, UK, pp. 261-285.
- Santos-Silva, J., Bessa, R.J.B., Santos-Silva, F., 2002. Effect of genotype, feeding and slaughter weight on the quality of light lambs II. Fatty acid composition of meat. *Livestock Production Science*, 77: 187-194.



- Santos-Silva, J., Mendes, I.A., Portugal, P.V., Bessa, R.J.B., 2004. Effect of particle size and soybean oil supplementation on growth performance, carcass and meat quality and fatty acid composition of intramuscular lipids of lamb. *Livestock Production Science*, 90: 79-88.
- Scerbo, R., Barghigiani, C., 1998. Organic mercury determination in fish samples using an automatic mercury analyser. *Environmental Technology*, 19: 339-342.
- Seixas, T.G., Kehrig, H.D.A., Fillmann, G., Beneditto, A.P.M.D., Souza, M.M., Secchi, E.R., Moreira, I., Malm, O., 2007. Ecological and biological determinants of trace elements accumulation in liver and kidney of *Pontoporia blainvillei*. *Science of the Total Environment*, 385: 208-220.
- Senso, L., Suárez, M.D., Ruiz-Cara, T., Garcia-Gallego, M., 2007. On the possible effects of harvesting season and chilled storage on the fatty acid profile of the fillet of farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Food Chemistry*, 101: 298-307.
- Shah, A.Q., Kazi, T.G., Arain, M.B., Jamali, M.K., Afridi, H.I., Jalbani, N., Baig, J.A., Kandhro, G.A., 2009. Accumulation of arsenic in different fresh water fish species – potential contribution to high arsenic intake. *Food Chemistry*, 112: 520-524.
- Shen, L.H., Nieuwenhuizen, H., Luten, J.B., 1997. Speciation and in vitro bioavailability of selenium in fishery products. In: J.B. Luten, T. Børresen, J. Oehlenschläger (eds.), *Seafood from producer to consumer, integrated approach to quality*, Elsevier Science B.V, Amsterdam, pp. 653-663.
- Sikorski, Z.E., Kolakowska, A., Pan, B.S., 1990. The nutritive composition of the major groups of marine food organisms. In: Z.E. Sikorski (Ed.), *Seafood: resources, nutritional composition and preservation*, CRC Press Inc, Florida, pp. 29-54.
- Simopoulos, A.P., 1997. Nutritional aspects of fish. In: J.B. Luten, T. Borresen, J. Oehlenschläger (Eds), *Seafood from producer to consumer*, Elsevier, Amsterdam, pp. 589-607.
- Simopoulos, A.P., 1999. Essential fatty acids in health and chronic disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 70(suppl): 560S–9S.
- Simopoulos, A.P., 2000. Symposium: Role of poultry products in enriching the human diet with n-3 PUFA. Human requirement for n-3 polyunsaturated fatty acids. *Poultry Science*, 79:961–970.

- Simopoulos, A.P., 2002. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 56: 365–379
- Simopoulos, A.P., 2004. Omega-6/Omega-3 essential fatty acid ratio and chronic diseases. *Food Reviews International*, 20(1): 77–90.
- Simopoulos, A.P., 2006. Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 60: 502–507.
- Sivaperumal, P., Sankar, T.V., Viswanathan, N., 2007. Heavy metal concentrations in fish, shellfish and fish products from internal markets of India vis-a-vis international standards. *Food Chemistry*, 102: 612-629.
- Soto, M., Marigómez, I., 1995. Techniques for the study of metals in cell biology. In: M.P. Cajaraville (ed.), *Cell biology in environmental toxicology*, Universidad del País Vasco, Bilbao, pp. 59-88.
- Stehmann, M., Bürkel, D.L., 1986. Rajidae. In: P.J.P. Whiehead, M.-L. Bauchot, J.-C. Hureau, J. Nielsen, E. Tortonese (eds.), *Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean*, UNESCO, Paris, pp. 163-196.
- Storelli, M.M., Marcotrigiano, G.O., 2000<sup>a</sup>. Fish for human consumption: risk of contamination by mercury. *Food Additives and Contaminants*, 17(12): 1007-1011.
- Storelli, M.M., Marcotrigiano, G.O., 2000<sup>b</sup>. Organic and inorganic arsenic and lead in fish from the South Adriatic Sea, Italy. *Food Additives and Contaminants*, 17(9): 763-768.
- Storelli, M.M., Giacominielli Stuffer, R., Storelli, A., Marcotrigiano, G.O., 2003. Total mercury and methylmercury content in edible fish from the Mediterranean Sea. *Journal of Food Protection*, 60: 300-303.
- Storelli, M.M., Giacominielli-Stuffer, R., Storelli, A., Marcotrigiano, G.O., 2005<sup>a</sup>. Accumulation of mercury, cadmium, lead and arsenic in swordfish and bluefin tuna from the Mediterranean Sea: A comparative study. *Marine Pollution Bulletin*, 50: 993-1018.

- Storelli, M.M., Storelli, A., Giacomini-Stuffler, R., Marcotrigiano, G.O., 2005<sup>b</sup>. mercury speciation in the muscle of two commercially important fish, hake (*Merluccius merluccius*) and striped mullet (*Mullus barbatus*) from the Mediterranean sea: estimated weekly intake. *Food Chemistry*, 89: 295-300.
- Storelli, M.M., 2008. Potential human risk from metals (Hg, Cd, and Pb) and polychlorinated biphenyls (PCBs) via seafood consumption: Estimation of target hazard quotients (THQs) and toxic equivalents (TEQs). *Food and Chemical Toxicology*, 46: 2782-2788.
- Stults, V.J., 1981. Nutritional hazards. In: Roberts, H.R. (Ed.), *Food safety*, John Wiley & Sons, USA.
- Svetovidov, A.N., 1986. Merluccidae. In: P.J.P. Whiehead, M.-L. Bauchot, J.-C. Hureau, J. Nielsen, E. Tortonese (eds.), *Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean*. UNESCO, Paris, pp. 677-679.
- Syväoja, E.-L., Salminen, K., 1985. Tocopherols and tocotrienols in Finnish food: fish and fish products. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 62 (8): 1245-1248.
- Tahvonen R., Aro, T., Nurmi, J., Kallio, H., 2000. Mineral content in Baltic herring and Baltic herring products. *Journal of Food Composition and Analysis*, 13: 893-903.
- Taylor, M.G., 1995. Mechanisms of metal immobilisation and transport in cells. M.P. Cajaraville (Ed.), In: *Cell biology in environmental toxicology*, Universidad del Pais Vasco, Bilbao, pp. 155-169.
- Teeny, F.M., Gauglitz, E.J., Hall, A.S., Houle, C.R., 1984. Mineral composition of the edible muscle tissue of seven species of fish from the Northeast Pacific. *Journal of Agriculture Food chemistry*, 32 (4): 852-855.
- Tocher, D.R., 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in Teleost fish. *Reviews in Fisheries Science*, 11(2): 107-184
- Torreblanca, A., Mayans, J.D., Ramo, J., 1993. Acumulacion de metales. In: A. Mas, J.M. Azcue, (Ed.), *Metales en sistemas biológicos*, PPU, S.A., Barcelona, pp 257-274.

- Turan, H., Sönmez, G., Kaya, Y., 2007. Fatty acid profile and proximate composition of the thornback ray (*Raja clavata*, L. 1975) from the Sinop coast in the Black Sea. *Journal of Fisheries Sciences.com*, 1(2): 97-103.
- Tuset, V.M., González, J.A., Santana, J.I., Moreno-López, A., Garcia-Díaz, M.M., 2006. Reproductive pattern and growth in *Lepidopus caudatus* (Osteichthyes, Trichiuridae) from the Canary Islands (Easterncentral Atlantic). *Electronic Journal of Ichthyology*, 1: 26-37.
- UE, 2008. Regulamento (CE) N° 629/2008 da Comissão de 2 Julho de 2008. JO L 173 03-07-2008. pp 6-9.
- Ulbricht, T.L.V., Southgate, D.A.T., 1991. Coronary heart disease : seven dietary factors. *Lancet*, 338: 985-992. (In: Senso *et al.*, 2007).
- Usydus, Z., Szlinder-Richert, Adamczyk, M., 2009. Protein quality and amino acid profiles of fish products available in Poland. *Food Chemistry*, 112: 139-145.
- Valdimarsson, G., James, D. J., 2001. World fisheries-utilization of catches. *Ocean & Coastal Management*, 44: 619-633.
- Valfré, F., Caprino, F., Turchini, G.M., 2003. The health benefit of seafood. *Veterinary Research Communications*, 27(Suppl. 1): 507-512.
- Varo, P., 1992. Paper 4. Mineral and trace elements in fish. In: *Fish as food*, Nordiske Seminar, Arbejdsrapporter Nordisk Ministerråd, København, pp. 57-84.
- Vas, P., 1991. Trace metal levels in sharks from British and Atlantic waters. *Marine Pollution Bulletin*, 22(2): 67-72.
- Vas, P., Gordon, J.D.M., Fielden, P.R., Overnell, J., 1993. The trace metal ecology of ichthyofauna in the Rockall Trough, North-eastern Atlantic. *Marine Pollution Bulletin*, 26(11): 607-612.
- Visioli, F., Hagen, T.M., 2007. Nutritional strategies for healthy cardiovascular aging: Focus on micronutrients. *Pharmacological Research*, 55: 199-206.

- Wang, C., Harris, W.S., Chung, M., Lichtenstein, A.H., Balk, E.M., Kupelnick, B., Jordan, H.S., Lau, J., 2006. n-3 Fatty acids from fish or fish-oil supplements, but not alfa-linolenic acid, benefit cardiovascular disease outcomes in primary- and secondary-prevention studies: a systematic review. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 84: 5-17.
- Wąsowicz, E., 2003. Cholesterol and phytosterols. In: Z.E. Sikorski, A. Kołakowska (Eds.), *Chemical and functional properties of food lipids*, CRC Press, NW, pp. 93-105.
- Watanabe, T., Kiron, V., Satoh, S., 1997. Trace minerals in fish nutrition. *Aquaculture*, 151: 187-207.
- Weihrauch, J. L., Posati, L. P., Anderson, B. A., Exler, J., 1977. Lipid conversion factors for calculating fatty acids contents in foods. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 54: 36-40.
- WHO, 1972. Evolution of mercury, lead, cadmium and the food additives amaranth, diethylpyrocyanate and octyl gallate. FAO Nutrition meetings Report Series, N°. 51A: WHO Food additives Series, 4.
- WHO, 1999. Summary and conclusions of the sixty-first meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), JECFA/61/SC, Rome, 1-10 June 1999, 21 p.
- WHO, 2003<sup>a</sup>. Diet, Nutrition and the prevention of chronic diseases: Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. WHO technical report series N° 916. Geneva, 28 de Janeiro a 1 Fevereiro 2002, 149 p.
- WHO, 2003<sup>b</sup>. Summary and conclusions of the fifty-third meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), JECFA/61/SC, Rome, 10-19 June 2003, 22 p.
- Wilkins, P.C., Wilkins, R.G., 1997. Inorganic chemistry in biology. Oxford University Press, Oxford.
- Zauke, G.-P., Savinov, V.M., Ritterhoff, J., Savinova, T., 1999. Heavy metals in fish from the Barents Sea (summer 1994). *The Science of the Total Environment*, 227: 161-173.

- Zelikoff, J.T., Bowser, D., Squibb, K.S., Frenkel, K., 1995. Immunotoxicity of low level cadmium exposure in fish: An alternative animal model for immunotoxicological studies. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 45: 235-248.
- Zlatanov, S., Laskaridis, K., 2007. Seasonal variation in the fatty acid composition of the three Mediterranean fish – sardine (*Sardina pilchardus*), anchovy (*Engraulis encrasicolus*) and picarel (*Spicara smaris*). *Food Chemistry*, 103: 725-728.

## BIOLOGIA DAS ESPÉCIES ESTUDADAS

### Peixe-espada-preto (*Aphanopus carbo*)

O peixe-espada-preto é classificado taxonomicamente da seguinte forma:

**Classe:** Actinopterygii

**Ordem:** Perciformes

**Família:** Trichiunidae

**Espécie:** *Aphanopus carbo* (Lowe, 1839)



Peixe-espada-preto

**Longevidade máxima:** 12 anos (Morales-Nin *et al.*, 2002).

**Ambiente/Habitat:** Vive ou alimenta-se entre os 200 e os 1700m (Fishbase, 2008). Em Portugal Continental esta espécie está distribuída entre os 800 e 1800 m sendo mais abundante entre os 1000 e 1600 m (Martins *et al.*, 1989).

Larvas pelágicas e juvenis mesopelágicos. Adultos bentopelágico (vive e alimenta-se perto do fundo bem como nas camadas superiores), efectuando migrações para as zonas mais superficiais durante a noite (Parin, 1986; Fishbase, 2008).

**Alimentação:** Carnívoros. A alimentação é baseada, principalmente, em crustáceos, cefalópodes e peixes (Parin, 1986; Fishbase, 2008).

**Reprodução:** A maturação sexual é atingida quando o comprimento alcança aproximadamente 80 cm. O período de reprodução ocorre nos meses de Inverno, a Oeste das Ilhas Britânicas, entre os 700-900 m de profundidade (Muus *et al.*, 1998). Na Madeira, esta espécie desova entre Outubro e Dezembro (Fernandes, 1984). Em Portugal Continental a maioria dos exemplares capturados são adultos e, contrariamente ao que se observa na área da Madeira, existem poucas fêmeas em avançadas condições de maturação. Este facto sugere que o peixe-espada-preto seja uma espécie altamente migradora e a zona de desova seja ao largo da Ilha da Madeira (Leite, 1989; Martins *et al.*, 1989; Figueiredo *et al.*, 2003).

**Importância económica:** Espécie comercial (Fishbase, 2008). O peixe-espada-preto é uma das principais espécies desembarcadas em Portugal Continental. É capturado ao largo de Sesimbra, por pescaria artesanal, a uma profundidade entre os 800 e 1200 metros. Os desembarques desta espécie na costa continental portuguesa, em 2004, atingiram 2274 toneladas, das quais 2264 foram registadas em Sesimbra e 10 em Peniche (Moura *et al.*, 2006). Em 2006 foram desembarcados em lota cerca de 2 674

toneladas de peixe-espada-preto de um total de 105 094 toneladas de peixes provenientes de águas marinhas (não inclui as regiões Autónomas) (DGPA, 2007<sup>c</sup>).

### Peixe-espada-branco

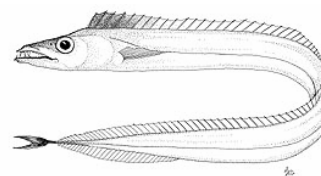
O peixe-espada-branco é classificado taxonomicamente da seguinte forma:

**Classe:** Actinopterygii

**Ordem:** Perciformes

**Família:** Trichiuridae

**Espécie:** *Lepidopus caudatus* (Euphrasen, 1788)



Peixe-espada-branco

**Longevidade máxima:** 8 anos (Demestre *et al.*, 1993).

**Ambiente/Habitat:** Vive ou alimenta-se entre os 42 e os 620m (Fishbase, 2008). Os ovos e as larvas são pelágicos. Adultos bentopelágico ocorrem na plataforma continental (até 400m de profundidade), em regra, sobre fundos arenosos e enlameados entre 100m e 250m. Efectuam migrações para zonas mais superficiais durante a noite (Parin, 1986; Fishbase, 2008).

**Alimentação:** Carnívoros. Alimentam-se de pequenas presas, principalmente, peixes e crustáceos (Parin, 1986; Demestre *et al.*, 1993, Fishbase, 2008). As presas consumidas são relativamente pequenas atendendo ao tamanho que esta espécie pode atingir (Demestre *et al.*, 1993).

**Reprodução:** Na costa norte africana desde do fim do Inverno até ao início da Primavera e do Verão ao Outono no Mar Adriático (Parin, 1986) e em todo o Mediterrâneo (Demestre *et al.*, 1993).

**Importância económica:** Espécie altamente comercial (Fishbase, 2008). Em 2006 foram desembarcados em lota cerca de 5,5 toneladas de peixe-espada-branco de um total de 105 094 toneladas de peixes provenientes de águas marinhas (não inclui as regiões Autónomas) (DGPA, 2007<sup>c</sup>).



## Tamboril

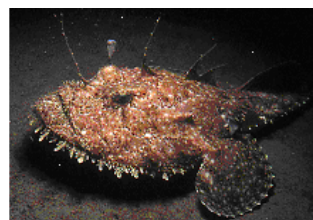
O tamboril é classificado taxonomicamente da seguinte forma:

**Classe:** Actinopterygii

**Ordem:** Lophiiformes

**Família:** Lophiidae

**Espécie:** *Lophius piscatorius* (Linnaeus, 1758)



Tamboril

**Longevidade máxima:** 24 anos (Landa *et al.* 2001; Fishbase, 2008).

**Ambiente/Habitat:** Vive ou alimenta-se entre os 20 e os 1000m (Fishbase, 2008). Bentónico, vive em fundos arenosos e lamacentos desde dos 20 m até aos 1000 m. Pode também ser encontrado em fundos rochosos (Caruso, 1986, Fishbase, 2008).

**Alimentação:** Carnívoros. Alimenta-se principalmente de peixes e ocasionalmente de aves marinhas (Caruso, 1986, Fishbase, 2008).

**Reprodução:** Na costa Atlântica Ibérica ocorre entre Janeiro e Junho (Duarte *et al.*, 2001).

**Importância económica:** Altamente comercial (Fishbase, 2008). Os tamboris (*Lophius piscatorius* e *L. budegassa*) são capturados tanto por pescaria artesanal como de arrasto (Landa *et al.*, 2001; Moura *et al.*, 2006). Em lota, estas espécies são desembarcadas e agrupadas numa única categoria, Tamboris, ou seja não são discriminadas ao nível da espécie (ICES, 2007). Entre 2000 e 2002 a captura de tamboris por pescaria artesanal representou cerca de 2% do total de capturas em peso e menos de 1% por pescaria de arrasto (ICES, 2007). Em 2006 foram desembarcados em lota cerca de 251 toneladas de tamboris (inclui várias espécies) de um total de 105 094 toneladas de peixes provenientes de águas marinhas (não inclui as regiões Autónomas) (DGPA, 2007°).

## Tamboril-sovaco-preto

O tamboril-sovaco-preto é classificado taxonomicamente da seguinte forma:

**Classe:** Actinopterygii

**Ordem:** Lophiiformes

**Família:** Lophiidae

**Espécie:** *Lophius budegassa* (Spínola, 1807)



Tamboril-sovaco-preto

**Longevidade máxima:** 21 anos (Fishbase, 2008).

**Ambiente/Habitat:** Vive ou alimenta-se entre os 300 e os 1013 m (Fishbase, 2008). Bentónico, vive junto ao fundo, desde a costa até cerca de 850 m de profundidade. Fundos móveis (detriticos, vasosos), em regra profundos (até 600 m e mais) (Caruso, 1986; Fishbase, 2008).

**Alimentação:** Carnívoros. Alimenta-se de nécton, principalmente peixe (Caruso, 1986; Fishbase, 2008).

**Reprodução:** Na costa Atlântica Ibérica ocorre entre Novembro e Fevereiro (Duarte *et al.*, 2001).

**Importância económica:** Espécie comercial (Fishbase, 2008). Os tamboris (*Lophius piscatorius* e *L. budegassa*) são capturados tanto por pescaria artesanal como de arrasto (Moura *et al.*, 2006). Em lota, estas espécies são desembarcadas e agrupadas numa única categoria, tamboris, ou seja não são discriminadas ao nível da espécie (ICES, 2007). Entre 2000 e 2002 a captura de tamboris por pescaria artesanal representou cerca de 2% do total de capturas em peso e menos de 1% por pescaria de arrasto (ICES, 2007). Em 2006 foram desembarcados em lota cerca de 251 toneladas de tamboris (inclui várias espécies) de um total de 105 094 toneladas de peixes provenientes de águas marinhas (não inclui as regiões Autónomas) (DGPA, 2007<sup>c</sup>).

## Areeiro

O areeiro é classificado taxonomicamente da seguinte forma:

**Classe:** Actinopterygii

**Ordem:** Pleuronectiformes

**Família:** Scophthalmidae

**Espécie:** *Lepidorhombus whiffiagonis* (Walbaum, 1792)



Areeiro

**Longevidade máxima:** 14 anos. Em águas portuguesas a idade máxima registada é de 9 anos (ICES, 2007).

**Ambiente/ Habitat:** Vive ou alimenta-se entre os 100 e os 700 m (Fishbase, 2008). Bentónico, vive desde da costa até cerca de 700m de profundidade, sendo mais frequente entre os 100 e os 400 metros. Encontra-se em solos macios (Nielsen, 1986; Fishbase, 2008).

**Alimentação:** Carnívoros. Alimenta-se de pequenos peixes que vivem no fundo bem como de cefalópodes e crustáceos (Nielsen, 1986; Fishbase, 2008). Os adultos alimentam-se preferencialmente de peixe (ICES, 2007).

**Reprodução:** Entre Março e Junho (Nielsen, 1986). Na costa portuguesa a reprodução ocorre de Janeiro a Abril (ICES, 2007).

**Importância económica:** Espécie altamente comercial (Fishbase, 2008). O areeiro é capturado tanto por pescaria artesanal como de arrasto (Moura *et al.*, 2006). Em 2006 foram desembarcados em lota cerca de 237 toneladas de areeiros (*Lepidorhombus whiffiagonis* e *Lepidorhombus boscii*) de um total de 105 094 toneladas de peixes provenientes de águas marinhas (não inclui as regiões Autónomas) (DGPA, 2007<sup>c</sup>). A espécie areeiro representa entre 12 a 25% do total de capturas (em toneladas) das duas espécies (ICES, 2007).

## Areeiro-de-quatro-manchas

O areeiro-de-quatro-manchas é classificado taxonomicamente da seguinte forma:

**Classe:** Actinopterygii

**Ordem:** Pleuronectiformes

**Família:** Scophthalmidae

**Espécie:** *Lepidorhombus boscii* (Risso, 1810)



Areeiro-de-quatro-mancha

**Longevidade máxima:** 14 anos. Em águas portuguesas a idade máxima registada é 9 anos (ICES, 2007).

**Ambiente/ Habitat:** Vive ou alimenta-se entre os 7 e os 800 m (Fishbase, 2008). Bentónico, vive desde da costa até cerca de 600 m de profundidade, sendo mais frequente entre os 200 e os 600 metros (Nielsen, 1986; Fishbase, 2008).

**Alimentação:** Carnívoros. Os adultos alimentam-se preferencialmente de crustáceos (ICES, 2007).

**Reprodução:** Entre Março e Junho (Nielsen, 1986). Na costa portuguesa a reprodução ocorre de Janeiro a Abril (ICES, 2007).

**Importância económica:** Espécie pouco comercial (Fishbase, 2008). O areeiro-de-quatro-manchas é capturado tanto por pescaria artesanal como de arrasto (Moura *et al.*, 2006). Em 2006 foram desembarcados em lota cerca de 237 toneladas de areeiros de um total de 105 094 toneladas de peixes provenientes de águas marinhas (não inclui as regiões Autónomas) (DGPA, 2007<sup>c</sup>). De acordo com ICES (2007) a espécie predominante na região Ibérica é o areeiro-de-quatro-manchas comparativamente com o areeiro. Esta espécie representa entre 75 a 88% do total de capturas (em toneladas) das duas espécies (ICES, 2007).

## Pescada-europeia

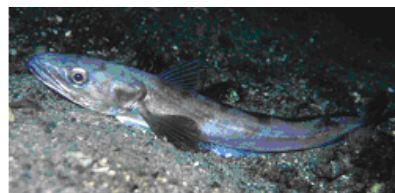
A pescada-europeia é classificada taxonomicamente da seguinte forma:

**Classe:** Actinopterygii

**Ordem:** Gadiformes

**Família:** Merlucciidae

**Espécie:** *Merluccius merluccius* (Linnaeus, 1758)



Pescada-europeia

**Longevidade máxima:** 11 anos (Piñeiro & Saínza, 2003); 20 anos (Fishbase, 2008).

**Ambiente/ Habitat:** Vive ou alimenta-se entre os 30 e os 1075 m (Fishbase, 2008). Encontram-se usualmente entre os 70 e os 370 metros. demersais/bentopelágicos (Storelli & Marcotrigiano, 2000<sup>b</sup>), adultos vivem perto do fundo durante o dia mas tem também vida pelágica (para se alimentarem), sobretudo durante a noite (Svetovidov, 1986; Fishbase, 2008).

**Alimentação:** Carnívoros. A dieta da pescada-europeia, proveniente da costa portuguesa, é baseada principalmente em peixes e crustáceos. Os peixes mais novos (com comprimentos menores que 20 cm) alimentam-se principalmente de crustáceos (Svetovidov, 1986; ICES, 2007; Fishbase, 2008).

**Reprodução:** A pescada-europeia, proveniente de águas Atlânticas da Península Ibérica, reproduz-se principalmente de Dezembro a Maio, com um máximo em Fevereiro (Piñeiro & Saínza, 2003).

**Importância económica:** Espécie altamente comercial (Fishbase, 2008). A captura da pescada-europeia, ao largo da Península Ibérica, ocorre á largos anos. Esta espécie é de extrema importância devido ao seu valor económico e é capturada exclusivamente para consumo humano (Piñeiro & Saínza, 2003). O *stock* de pescada é explorado pelas frotas, portuguesas e espanholas, de arrasto e artesanal (Moura *et al.*, 2006; ICES, 2007). Em 2004, os desembarques desta espécie representaram 3% do total da pesca portuguesa de arrasto e 2% da pesca artesanal (Moura *et al.*, 2006). Considerando o período entre 1982 e 2004, os desembarques totais provenientes deste *stock* variaram entre um máximo de 22 mil toneladas, atingido em 1983, e um mínimo de 5,6 mil toneladas, em 2003. Os desembarques portugueses constituem cerca de 40% deste total (Moura *et al.*, 2006). Em 2006 foram desembarcadas em lota cerca de 2220 toneladas de pescada (inclui várias espécies) de um total de 105 094 toneladas de peixes provenientes de águas marinhas (não inclui as regiões Autónomas) (DGPA, 2007<sup>c</sup>).

## Raias

As raias são classificadas taxonomicamente da seguinte forma:

**Classe:** Elasmobranchii

**Ordem:** Rajiformes

**Família:** Rajidae

**Espécies:** *Raja* spp:

Raia-lenga - *Raja clavata* (Linnaeus 1758),

Raia-pontuada - *Raja Brachyura* (Lafont, 1873),

Raia-zimbreira - *Raja microocellata* (Montagu, 1818)



Raia-lenga

**Longevidade máxima:** 15 anos (Raia-lenga) (ICES, 2008), 15 anos (Raia-pontuada) e 24 anos (Raia-zimbreira) (Fishbase, 2008).

**Ambiente/Habitat:** Vive ou alimenta-se entre os 20 e os 577 m Raia-lenga; 10 e os 380 m Raia-pontuada; ? e os 100 m) Raia-zimbreira. As três espécies são bentónicas e encontram-se em solos arenosos. As espécies Raia-lenga e Raia-pontuada também se encontram em solos arenosos/rochosos (Stehmann & Bürkel, 1986; Fishbase, 2008).

**Alimentação:** Carnívoros. Todo o tipo de animais que encontram no fundo do mar, especialmente crustáceos (Raia-lenga), animais bentónicos (Raia-pontuada) e peixes (Raia-zimbreira) (Stehmann & Bürkel, 1986; Fishbase, 2008).

**Reprodução:** Ovíparos (os embriões desenvolvem-se em cerca de 7 meses). Depositam os ovos na Primavera no Noroeste da Europa ou Inverno/Primavera no Mediterrâneo (Raia-lenga), Fevereiro a Agosto (Raia-pontuada) e no Verão (Raia-zimbreira) (Stehmann & Bürkel, 1986).

**Importância económica:** Espécie comercial (Raia-lenga) e pouco comercial (Raia-pontuada e Raia-zimbreira) (Fishbase, 2008). Em Portugal, apesar do seu interesse económico, as várias espécies de raias desembarcadas são agrupadas numa única categoria (Raias) ou seja não são discriminadas em lota ao nível da espécie (Machado & Figueiredo, 2000; Machado *et al.*, 2004). São capturadas pelas frotas de arrasto e artesanal (Machado *et al.*, 2004). Este grupo contribui com cerca de 40% do total, em peso, dos Elasmobrânquios capturados no Atlântico noroeste. Em Portugal as capturas rondam as 1500 toneladas por ano. Em 2006 foram desembarcadas em lota cerca de 1 554 toneladas de raias de um total de 105 094 toneladas de peixes provenientes de águas marinhas (não inclui as regiões Autónomas) (DGPA, 2007<sup>c</sup>).

**Quadro I** – Limite de detecção (LD) e concentração dos constituintes da composição química aproximada (expressa em %) analisados no presente trabalho em material de referência certificado (MRC) ( $n \geq 4$ ).

Elemento	LD	MRC	Valor obtido (%)	Valor certificado (%)
Humidade	n.d	SMRD-2000 <sup>a</sup>	68,7±0,0	68,8±0,1
Azoto (Proteína)	n.d.	SMRD-2000	1,62±0,06	1,63±0,05
Cinza	0,01g	SMRD-2000	2,69±0,03	2,65±0,07
Gordura	0,1g	SMRD-2000	14,4±0,1	14,3±0,4

n.d. – não determinado; a - Canned matrix meat, Swedish Meats R & D and Scan Foods/ National Food Administration, Sweden

**Quadro II** – Limite de detecção (LD), ácidos gordos (expresso em %) e  $\alpha$ -tocoferol (expresso em mg/kg) analisados no presente trabalho em material de referência certificado (MRC) ( $n \geq 4$ ), e percentagem de recuperação determinada para o colesterol.

	LD	MRC	Valor obtido (%)	Valor certificado (%)
<b>Ácidos Gordo</b>				
<b>14:0</b>	4 a 10 µg/ml	CRM -163 <sup>a</sup>	2,23±0,04	2,29±0,04
<b>16:0</b>			25,39±0,17	25,96±0,30
<b>16:1</b>			2,22±0,03 <sup>c</sup>	2,58±0,16
<b>18:0</b>			17,65±0,06	18,29±0,16
<b>18:1</b>			38,65±0,16 <sup>d</sup>	38,34±0,36
<b>18:2</b>			7,19±0,03 <sup>e</sup>	7,05±0,17
<b>18:3</b>			0,81±0,01 <sup>f</sup>	0,86±0,14
<b>Colesterol</b>	6,34 µg/ml	Recuperação (%)	100±13	
<b><math>\alpha</math>-tocoferol</b>	2.59 (µg/ml)	CRM-421 <sup>b</sup>	95±1	99±6

a - Beef-prok fat blend, Institute for Reference Materials and Measurement, Belgium b - Milk Powder, Institute for Reference Materials and Measurement, Belgium; c - 16:1n-7+n-5; d - 18:1n-9+n-7; e - 18:2n-6; f - 18:3n-3;

**Quadro III** – Limite de detecção (LD) e concentração dos elementos (expresso em mg/kg) analisados no presente trabalho por AAS (espectrofotometria de absorção atômica) em material de referência certificados (MRC) ( $n \geq 4$ ).

Elemento	LD	MRC	Valor obtido (mg/kg)	Valor certificado (mg/kg)
<b>Sódio</b>	0,09 mg/kg	SMRD-2000 <sup>a</sup>	8346±280	8533±281
<b>Magnésio</b>	0,02 mg/kg	LUTS-1 <sup>b</sup>	90,8±2,2	89,5±4,1
<b>Cobre</b>	0,02 mg/kg	LUTS-1	15,4±0,2	15,9±1,2
<b>Manganês</b>	0,01 mg/kg	DORM-2 <sup>c</sup>	3,62±0,18	3,66±0,34
		TORT-2 <sup>d</sup>	13,1 ± 0,1	13,6±1,2
		LUTS-1	1,28±0,03	1,20±0,13
<b>Cádmio</b>	0,04 µg/kg	DORM-2	0,040±0,003	0,043±0,008
		TORT-2	26,1±0,3	26,7±0,6
		CRM-422	0,016±0,002	0,017±0,002
<b>Chumbo</b>	0,6 µg/kg	DORM-2	0,066±0,004	0,065±0,007
		TORT-2	0,34±0,08	0,35±0,13
		CRM-422 <sup>e</sup>	0,091±0,005	0,085±0,015
<b>Mercúrio total</b>	0,5 µg/kg	DORM-2	4,68±0,17	4,64±0,26
		TORT-2	0,28 ± 0,00	0,27 ± 0,06
		CRM-463 <sup>f</sup>	2,99±0,02	2,85±0,16
<b>Mercúrio orgânico</b>	0,5 µg/kg	DORM-2	4,23±0,05	4,47±0,32
		CRM-463	3,01±0,08	3,04±0,16

a - Canned matrix meat, Swedish Meats R & D and Scan Foods/ National Food Administration, Sweden; b - Non defatted lobster hepatopancreas, National Research Council of Canada; c - Dogfish muscle, National Research Council of Canada; d - Lobster hepatopancreas, National Research Council of Canada; e - Cod muscle, Institute for Reference Materials and Measurement, Belgium; f - Tuna fish, Institute for Reference Materials and Measurement, Belgium



**Quadro IV** – Limite de detecção (LD) e concentração dos elementos (expressa em mg/kg) analisados no presente trabalho por EDFRX (espectroscopia dispersiva por fluorescência de raios-X) em material de referência certificados (MRC) ( $n \geq 4$ ).

<b>Elemento</b>	<b>LD (mg/kg)<sup>#</sup></b>	<b>MRC</b>	<b>Valor obtido (mg/kg)</b>	<b>Valor certificado (mg/kg)</b>
<b>Potássio</b>	10	SRM 1566 <sup>a</sup>	10000±80	9690±50
<b>Cálcio</b>	20	SRM 1566	1350±50	1500±200
<b>Manganês</b>	4	TORT-2 <sup>b</sup>	12,9±0,34	13,6±1,2
<b>Ferro</b>	3	TORT-2	97± 6	105±13
		SRM 1566	210±15	195±34
<b>Cobre</b>	1	TORT-2	102±2	106±10
		SRM 1566	63,6±4	63,0±3,5
<b>Zinco</b>	1	TORT-2	177±2,5	180 ± 6
		SRM 1566	830±40	852±14
<b>Cloro</b>	10	SRM 1566	10200 ± 500	10000*
<b>Enxofre</b>	10	SRM 1566	8000±500	7600*
<b>Selênio</b>	0.6	TORT-2	5,34±0,43	5,63±0,67
		MA-A-2 <sup>c</sup>	1,5±0,4	1,7±0,3
		SRM 1566	2,3±0,5	2,1±0,5
<b>Arsênio</b>	0.7	MA-A-2	2,5±0,7	2,6±0,1
		SRM 1566	13±1	13±2

# peso seco; a - oyster tissue, United States National Bureau of Standards; b - Lobster hepatopancreas, National Research Council of Canada; c - Fish flesh, International Atomic Energy Agency; \*valores não certificados apresentados pelo United States National Bureau of Standards

**Quadro I** – Comprimento (cm), peso (g) e sexo das espécies estudadas.

Espécie	Exemplar (Nº)	Comprimento (cm)	Peso (g)	Sexo
<b>Peixe-espada-preto</b> ( <i>Aphanopus carbo</i> )	1	98	2070	F
	2	103	1180	F
	3	113	2140	F
	4	117	2030	F
	5	107	1600	F
	6	108	1650	F
	7	97	1073	M
	8	104	1278	F
	9	102	1386	F
	10	112	1969	M
	11	93	1050	F
	12	99	1038	M
	13	116	2603	F
	14	121	2726	F
	15	118	2381	F
	16	117	2278	M
	17	119	2494	F
	18	119	2513	F
	19	95	1183	F
	20	104	1590	F
	21	113	1802	M
	22	120	2248	F
	23	114	1815	M
	24	122	2032	F
	25	109	1572	M
	26	122	2397	F
	27	114	1736	F
	28	107	1650	F
	29	111	1689,1	F
	30	105	1631	M
	31	108	1332	F
	32	97	1240	F
	33	90	940	F
	34	102	1385	F
	35	93	1140	M
	36	109	2040	M
	37	111	2000	F
	38	115	2060	M
	39	116	2285	F
	40	106	1390	M
	41	117	1900	F
	42	94	1030	F
	43	101	1225	M
	44	105	1515	M
	45	115	2100	M
	46	120	2210	M
	47	111	1805	F
	48	100	2060	F
	49	112	3050	F
	50	88	1640	M
Média±Desvio padrão		108±9	1783±503	
Mediana		109	1769	
Mínimo-Máximo		88-122	940-3050	

## Continuação

<b>Espécie</b>	<b>Exemplar (Nº)</b>	<b>Comprimento (cm)</b>	<b>Peso (g)</b>	<b>Sexo</b>
<b>Peixe-espada-branco</b> ( <i>Lepidopus caudatus</i> )	1	120	1080	Ind.
	2	115	950	Ind.
	3	123	1250	Ind.
	4	124	1325	Ind.
	5	131	1490	Ind.
	6	124	1460	M
	7	154	2625	F
	8	143	2250	F
	9	153	2740	F
	10	134	1850	M
Média±Desvio padrão		132±14	1702±637	
Mediana		127	1475	
Mínimo-Máximo		115-154	950-2740	
<b>Tamboril</b> ( <i>Lophius piscatorius</i> )	1	77	7050	M
	2	82	8400	F
	3	55	2800	M
	4	67	5200	F
	5	70	4772	M
	6	69	5000	F
	7	92	11500	F
	8	65	3630	M
	9	70	4482	F
	10	59	2286	M
	11	72	5000	M
	12	95	12100	F
Média±Desvio padrão		73±12	6018±3168	
Mediana		70	5000	
Mínimo-Máximo		55-95	2286-12100	
<b>Tamboril-sovaco-preto</b> ( <i>Lophius budegassa</i> )	1	46	1200	M
	2	60	3850	F
	3	40	950	M
	4	41	1000	M
	5	44	1350	M
	6	48	1600	M
	7	62	4150	F
	8	65	4196	F
	9	51	1850	M
	10	50	1900	M
	11	40	950	M
	12	40	1200	M
	13	48	1450	M
	14	50	1900	M
	15	44	1260	M
	16	45	1200	M
	17	49	1750	M
	18	41	1100	F
	19	50	1550	M
	20	43	970	M
	21	73	5324	F
Média±Desvio padrão		49±9	1938±1276	
Mediana		48	1450	
Mínimo-Máximo		40-73	950-5324	

## Continuação

Espécie	Exemplar (Nº)	Comprimento (cm)	Peso (g)	Sexo
<b>Areeiro</b> ( <i>Lepidorhombus whiffiagonis</i> )	1	31	236	M
	2	37	370	M
	3	44	702	M
	4	45	710	M
	5	47	788	M
Média±Desvio padrão		41±6	561±243	
Mediana		44,1	702	
Mínimo-Máximo		31-47	236-788	
<b>Areeiro-de-quatro-manchas</b> ( <i>Lepidorhombus boscii</i> )	1	27	158	F
	2	22	74	F
	3	25	118	M
	4	31	199	F
	5	24	109	F
	6	28	167	F
	7	27	153	F
	8	27	181	M
	9	27	154	F
	10	28	177	F
	11	27	171	F
	12	27	166	F
	13	26	141	M
	14	26	153	F
	15	26	153	M
	16	26	140	F
	17	25	116	M
	18	26	142	F
	19	25	124	M
	20	26	149	F
	21	25	132	M
	22	25	128	F
	23	25	110	M
	24	24	124	M
	25	24	127	F
	26	24	107	F
	27	25	121	F
	28	25	132	M
	29	25	124	M
	30	24	115	F
	31	25	115	F
	32	23	97	F
	33	24	106	M
	34	23	95	M
	35	24	104	F
	36	24	99	M
	37	23	103	M
	38	23	99	M
	39	23	90	M
	40	27	164	M
	41	28	197	M
	42	29	167	M
	43	29	233	F
	44	29	233	F
	45	31	208	M

## Continuação

Espécie	Exemplar (Nº)	Comprimento (cm)	Peso (g)	Sexo
<b>Areeiro-de-quatro-manchas</b> ( <i>Lepidorhombus boscii</i> )	46	30	245	F
	47	31	311	F
	48	31	270	F
	49	32	326	F
	50	33	341	F
	51	31	242	F
Média±SD		26±3	157±62	
Mediana		26	141	
Mínimo-Máximo		22-33	74-341	
<b>Pescada-europeia</b> ( <i>Merluccius merluccius</i> )	1	25	97	F
	2	27	119	F
	3	29	145	M
	4	31	173	F
	5	40	802	F
	6	57	1465	F
	7	50	852	F
	8	51	929	F
	9	50	970	F
	10	44	591	F
	11	40	408	F
	12	48	782	F
	13	41	520	F
	14	47	719	M
	15	32	227	F
	16	34	275	F
	17	39	360	M
	18	36	345	M
	19	38	366	Ind.
	20	54	1102	Ind.
	21	52	934	Ind.
	22	55	1155	Ind.
	23	59	1330	Ind.
	24	58	1369	Ind.
	25	57	1352	Ind.
	26	60	1464	Ind.
	27	62	1496	Ind.
	28	12	10	Ind.
	29	16	23	Ind.
	30	17	26	Ind.
	31	21	52	M
Média±Desvio padrão		41±14	660±503	
Mediana		41	591	
Mínimo-Máximo		12-62	10-1496	

## Continuação

Espécie	Exemplar (Nº)	Comprimento (cm)	Peso (g)	Sexo
<b>Raias (<i>Raja</i> spp):</b>				
<i>Raja clavata</i>	1	59	1300	M
<i>Raja clavata</i>	2	52	925	F
<i>Raja brachyura</i>	3	56	975	M
<i>Raja brachyura</i>	4	52	975	M
<i>Raja clavata</i>	5	74	2450	M
<i>Raja clavata</i>	6	67	1850	M
<i>Raja clavata</i>	7	75	2500	F
<i>Raja clavata</i>	8	87	4500	F
<i>Raja brachyura</i>	9	75	3410	M
<i>Raja microocellata</i>	10	77	3120	F
Média±Desvio padrão		67±12	2201±1216	
Mediana		70	2150	
Mínimo-Máximo		52-87	925-4500	

M – macho; F – fêmea; Ind. – sexo indeterminado; \* peso esviscerado

**Quadro II** - Composição química aproximada (%) e valor energético (kcal) das espécies estudadas.

Espécie	Exemplar (N°)	Humidade (%)	Gordura (%)	Proteína (%)	Cinza (%)	Valor Energético (kcal)
<b>Peixe-espada-preto</b> ( <i>Aphanopus carbo</i> )	2	80,1	1,0	18,7	1,1	83
	5	80,2	0,8	17,6	1,2	78
	6	80,0	0,4	18,6	1,1	79
	14	78,9	1,3	21,2	1,1	96
	16	79,9	0,3	20,8	1,2	86
	18	76,3	4,1	19,6	1,1	116
	23	81,4	0,6	17,1	1,3	74
	25	80,8	1,0	17,3	1,1	78
	26	81,2	0,5	17,3	1,3	74
	27	79,3	0,6	17,8	1,2	77
	30	79,4	1,3	20,5	1,2	93
	31	80,3	0,3	18,5	1,2	77
	33	78,6	2,2	18,1	1,1	92
	35	78,1	2,8	18,2	1,3	98
	36	77,9	3,5	16,9	1,2	99
	39	78,6	2,0	18,3	1,1	91
	40	79,9	0,4	18,7	1,0	79
	41	80,9	0,4	17,4	1,3	73
	42	79,0	1,6	18,6	1,3	89
	44	79,6	1,3	18,0	1,2	84
	46	80,2	1,2	17,7	1,1	82
	48	80,8	0,3	17,7	1,2	73
	50	79,4	0,9	18,7	1,2	83
Média±Desvio padrão		79,6±1,2	1,2±1,0	18,4±1,2	1,2±0,1	85±11
Mediana		79,9	1,0	18,2	1,2	83,0
Mínimo-Máximo		76,3-81,4	0,3-4,1	16,9-21,2	1,0-1,3	73-116
<b>Peixe-espada-branco</b> ( <i>Lepidopus caudatus</i> )		82,9	0,1	14,7	1,4	60
		80,5	0,3	17,8	1,4	74
		83,3	0,6	15,5	1,3	68
		79,5	0,2	18,5	1,3	76
		81,6	0,2	16,9	1,3	70
		78,8	1,7	16,9	1,4	83
		80,4	0,1	18,7	1,2	76
		79,4	0,04	19,3	1,2	78
		80,1	0,3	18,4	1,2	76
		79,4	0,4	18,6	1,2	78
Média±SD		80,6±1,5	0,4±0,5	17,5±1,5	1,3±0,1	74±6
Mediana		80,2	0,3	18,1	1,3	76
Mínimo-Máximo		78,8-83,3	0,04-1,7	14,7-19,3	1,2-1,4	60-83
<b>Tamboril</b> ( <i>Lophius piscatorius</i> )	1	79,8	0,3	18,2	1,1	76
	2	81,4	0,2	18,7	1,1	77
	3	80,0	0,4	18,2	1,3	76
	4	78,6	0,3	18,1	1,1	75
	5	82,8	0,3	16,4	1,1	68
	6	83,6	0,3	16,0	1,2	66
	9	82,8	0,2	16,9	1,1	69
	10	82,1	0,3	16,8	1,2	70
Média±Desvio padrão		81,4±1,7	0,3±0,1	17,4±1,0	1,2±0,1	72±4
Mediana		81,7	0,3	17,5	1,1	73,0
Mínimo-Máximo		78,6-83,6	0,2-0,4	16,0-18,7	1,1-1,3	66-77

## Continuação

Espécie	Exemplar (Nº)	Humidade (%)	Gordura (%)	Proteína (%)	Cinza (%)	Valor Energético (kcal)
<b>Tamboril-sovaco-preto</b> ( <i>Lophius budegassa</i> )	2	79,1	0,3	18,9	1,3	78
	5	80,7	0,2	17,3	1,2	71
	6	80,7	0,2	17,2	1,2	70
	7	79,5	0,3	18,8	1,2	77
	9	80,1	0,3	18,3	1,2	76
	11	80,7	0,3	17,5	1,3	72
	13	81,9	0,2	16,6	1,2	68
	14	78,7	0,3	20,0	1,3	83
	15	79,7	0,2	18,0	1,2	74
	17	80,0	0,3	18,0	1,3	75
	20	82,9	0,2	16,2	1,3	66
Média±Desvio padrão		80,4±1,2	0,2±0,1	17,9±1,1	1,2±0,03	74±5
Mediana		80,1	0,3	18,0	1,2	74
Mínimo-Máximo		78,7-82,9	0,2-0,3	16,2-20,0	1,2-1,3	66-83
<b>Areiro</b> ( <i>L. whiffiagonis</i> )	1	77	1,6	21,0	1,3	99
	2	78	1,9	18,1	1,3	89
	3	78	1,8	19,0	1,2	92
	4	80	0,8	18,2	1,3	80
	5	78	1,7	19,0	1,3	91
Média±Desvio padrão		78,1±1,2	1,6±0,4	19,1±1,2	1,3±0,05	90±7
Mediana		78,1	1,7	19,0	1,3	91
Mínimo-Máximo		76,6-79,8	0,8-1,9	18,1-21,0	1,2-1,3	80-99
<b>Areiro-de-quatro-manchas</b> ( <i>L. bosci</i> )	3	79,0	0,8	18,1	1,3	80
	5	74,6	0,6	23,8	1,4	100
	6	74,7	0,6	21,9	1,5	93
	7	75,2	0,5	21,7	1,4	91
	17	75,9	0,5	21,2	1,4	89
	22	75,1	1,0	23,4	1,4	102
	27	79,1	0,9	17,1	1,3	77
Média±SD		76,2±2,0	0,7±0,2	21,0±2,5	1,4±0,1	90±10
Mediana		75,2	0,6	21,7	1,4	91
Mínimo-Máximo		74,6-79,1	0,5-1,0	17,1-23,8	1,3-1,5	77-102
<b>Pescada-europeia</b> ( <i>Merluccius merluccius</i> )	3	80,0	0,4	18,0	1,5	76
	5	80,6	1,2	18,5	1,2	85
	6	77,3	0,7	20,1	1,4	87
	7	77,7	0,9	20,2	1,3	89
	17	77,4	1,0	20,4	1,4	91
	22	80,4	0,4	18,8	1,2	79
	27	78,7	0,3	19,0	1,3	79
Média±Desvio padrão		78,9±1,5	0,7±0,3	19,3±0,9	1,3±0,1	83±6
Mediana		78,7	0,7	19,0	1,3	85
Mínimo-Máximo		77,3-80,6	0,3-1,2	18,0-20,4	1,2-1,5	76-91
<b>Raias</b> ( <i>Raja spp</i> )	1	78,7	0,2	19,5	1,5	79
	2	77,8	0,2	19,8	1,5	81
	3	77,3	0,04	20,2	1,4	81
	4	77,0	0,02	20,6	1,3	83
	5	75,4	0,1	20,7	1,4	84
	6	77,3	0,8	19,1	1,5	84
	7	76,5	0,2	18,7	1,3	76
	8	78,5	0,1	19,8	1,4	80
	9	75,8	0,1	21,8	1,3	88
	10	76,3	0,7	21,8	1,3	93
Média±Desvio padrão		77,1±1,1	0,2±0,3	20,2±1,0	1,4±0,1	83±5
Mediana		77,1	0,1	20,0	1,4	82
Mínimo-Máximo		75,4-78,7	0,02-0,8	18,7-21,8	1,3-1,5	76-93



**Quadro III** - Perfil de ácidos gordos (%), teor de colesterol (mg/100g) e de  $\alpha$  - tocoferol (mg/100g) das espécies estudadas.

<b>Peixe-espada-preto</b>										
<b>Exemplar (Nº)</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>23</b>	<b>26</b>	<b>33</b>	<b>35</b>	<b>36</b>	<b>42</b>	<b>46</b>	<b>50</b>
<b>Ácidos gordos (%)</b>										
<b>14:0</b>	1,8	1,4	1,0	1,0	2,4	1,5	1,8	1,5	1,3	1,5
<b>16:0</b>	14,7	15,5	15,2	15,0	15,0	11,0	10,6	12,2	10,2	16,1
<b>18:0</b>	5,2	6,1	5,1	5,1	4,1	3,8	3,4	4,5	3,5	6,3
<b>Outros*</b>	0,7	0,8	0,6	0,6	0,9	0,7	0,7	0,9	0,6	0,7
<b>Σ Saturados</b>	22,4	23,8	21,9	21,7	22,4	17,0	16,5	18,9	15,6	24,7
<b>16:1</b>	2,9	2,7	2,2	2,1	3,6	2,8	3,1	3,0	2,3	2,1
<b>18:1n-9</b>	23,1	25,1	17,5	19,0	26,9	25,1	26,0	19,9	23,7	27,1
<b>20:1</b>	8,2	7,2	7,6	8,9	10,7	14,8	16,3	11,9	16,9	6,5
<b>22:1</b>	7,1	5,2	7,6	7,6	7,9	14,8	16,7	10,7	17,0	2,8
<b>Outros**</b>	5,1	5,5	5,0	4,8	4,8	5,8	5,4	6,0	5,7	5,3
<b>Σ Monoinsaturados</b>	46,3	45,8	39,9	42,4	53,9	61,8	67,0	57,2	62,2	43,9
<b>18:2n-6</b>	0,8	0,7	0,6	0,6	0,7	0,7	0,7	0,7	0,6	0,6
<b>18:4n-3</b>	0,1	0,1	0,0	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
<b>20:4n-6</b>	1,6	1,9	3,0	3,3	1,0	1,4	0,8	1,5	1,7	1,8
<b>20:4n-3</b>	0,5	0,5	0,5	0,4	0,7	0,4	0,4	0,4	0,3	0,6
<b>20:5n-3</b>	2,3	2,5	3,0	2,9	2,5	1,7	1,6	2,0	1,6	2,3
<b>22:5n-3</b>	1,4	1,1	1,0	1,1	1,3	0,7	0,5	0,8	0,8	1,3
<b>22:6n-3</b>	14,4	16,5	20,3	20,2	10,3	8,4	5,2	10,8	9,3	17,8
<b>Outros***</b>	3,3	3,1	3,4	3,6	3,4	3,8	3,6	3,8	4,0	3,1
<b>Σ Polinsaturados</b>	24,3	26,2	31,8	32,3	20,2	17,1	12,9	20,1	18,3	27,6
<b>Não identificados</b>	7,1	4,1	6,5	3,6	3,4	4,0	3,6	3,8	3,9	3,8
<b>Σ n-3</b>	19,4	21,5	25,6	25,8	16,1	12,2	8,6	15,3	12,7	23,1
<b>Σ n-6</b>	4,8	4,8	6,2	6,4	4,1	5,0	4,4	4,9	5,7	4,5
<b>Exemplar (Nº)</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>23</b>	<b>26</b>	<b>33</b>	<b>36</b>	<b>42</b>	<b>46</b>	<b>49</b>	<b>50</b>
<b>Colesterol (mg/100g)</b>	13,8	13,7	16,5	14,1	17,0	12,5	15,8	14,8	10,8	19,8
<b><math>\alpha</math> - Tocoferol (mg/100g)</b>	0,53	0,40	0,28	1,58	2,42	7,03	0,73	1,36	0,39	1,13

\* 15:0, 17:0, 20:0, 22:0 \*\* 17:1, 18:1n-7, 24:1n-9 \*\*\* 16:3n-3, 16:4n-3, 18:3n-3, 20:2n-6, 22:2n-6, 22:4n-6, 22:5n-6

Continuação

Peixe-espada-branco										
Exemplar (Nº)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ácidos gordos (%)										
14:0	1,1	1,5	0,5	2,4	2,0	4,7	1,1	1,0	0,6	2,7
16:0	17,9	18,3	17,3	16,8	17,0	17,7	16,6	17,1	17,6	19,2
18:0	10,2	7,7	10,9	8,0	7,8	5,6	9,0	9,5	9,6	6,6
Outros*	1,0	1,0	0,9	2,0	1,4	1,5	0,8	1,0	0,9	1,3
Σ Saturados	30,2	28,5	29,6	29,2	28,2	29,4	27,6	28,5	28,8	29,8
16:1	1,7	1,8	0,9	2,1	2,2	4,9	1,3	1,3	1,1	2,9
18:1n-9	11,6	20,3	14,3	11,4	19,5	16,0	11,4	12,3	12,6	20,3
20:1	1,1	3,0	0,8	2,3	2,0	3,6	2,5	2,1	1,9	3,6
22:1	0,3	2,2	0,6	2,9	2,4	5,7	2,2	1,8	1,6	1,7
Outros**	2,3	2,8	2,0	2,8	2,5	2,7	2,6	2,9	2,6	3,7
Σ Monoinsaturados	17,0	30,1	18,5	21,4	28,5	32,8	20,1	20,5	19,7	32,2
18:2n-6	1,1	0,9	1,0	1,3	1,0	1,3	1,1	1,1	1,1	1,4
18:4n-3	0,2	0,1	0,0	0,6	0,3	1,1	0,1	0,1	0,1	0,4
20:4n-6	4,0	3,2	4,9	2,7	2,8	1,5	2,8	2,5	2,5	1,5
20:4n-3	0,6	0,6	0,4	0,6	0,5	0,8	0,6	0,5	0,6	0,8
20:5n-3	7,0	5,2	5,0	5,1	5,1	7,0	5,7	4,4	4,6	4,0
22:5n-3	2,0	1,6	2,0	1,6	1,7	1,9	1,7	1,5	1,7	1,2
22:6n-3	29,1	21,3	28,8	27,5	23,0	15,6	32,0	33,2	33,2	20,5
Outros***	4,0	3,0	4,9	3,4	3,1	2,1	3,6	3,1	3,4	2,3
Σ Polinsaturados	48,2	36,0	47,0	42,8	37,6	31,4	47,7	46,4	47,2	32,1
Não identificados	4,6	5,4	4,9	6,5	5,7	6,4	4,7	4,6	4,3	5,8
Σ n-3	41,7	30,4	39,1	36,8	32,2	27,6	42,4	41,3	42,0	28,0
Σ n-6	6,5	5,5	7,8	5,9	5,4	3,8	5,3	5,1	5,1	4,1
Coolesterol (mg/100g)	20,0	18,3	16,2	16,9	16,4	13,9	13,6	14,4	14,0	15,1
α - Tocoferol (mg/100g)	0,20	0,05	0,11	0,09	0,14	0,07	0,35	0,15	0,13	0,32

\* 15:0, 17:0, 20:0, 22:0 \*\* 17:1, 18:1n-7, 24:1n-9 \*\*\* 16:3n-3, 16:4n-3, 18:3n-3, 20:2n-6, 22:2n-6, 22:4n-6, 22:5n-6

Continuação

Tamboril						
Exemplar (Nº)	1	3	5	6	9	10
<b>Ácidos gordos (%)</b>						
<b>14:0</b>	0,6	1,3	1,1	0,9	0,8	1,2
<b>16:0</b>	18,6	22,4	20,5	17,8	20,3	20,8
<b>18:0</b>	7,7	8,2	9,1	8,4	8,0	7,8
<b>Outros*</b>	0,6	0,7	0,6	1,1	0,6	0,6
<b>Σ Saturados</b>	27,5	32,5	31,3	28,2	29,7	30,4
<b>16:1</b>	2,2	2,7	2,7	2,4	2,3	2,7
<b>18:1n-9</b>	14,7	12,2	11,8	15,4	11,2	11,3
<b>20:1</b>	0,7	2,0	1,5	1,7	1,0	2,0
<b>22:1</b>	0,2	1,0	0,7	1,1	0,7	1,9
<b>Outros**</b>	4,2	4,7	4,4	5,3	4,4	4,1
<b>Σ Monoinsaturados</b>	22,0	22,6	21,0	26,0	19,6	21,9
<b>18:2n-6</b>	0,9	0,9	0,9	1,1	1,0	1,4
<b>18:4n-3</b>	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,3
<b>20:4n-6</b>	4,7	3,8	2,9	3,3	4,3	3,6
<b>20:4n-3</b>	0,3	0,2	0,3	0,2	0,2	0,3
<b>20:5n-3</b>	4,2	5,6	5,4	3,4	5,5	5,1
<b>22:5n-3</b>	2,0	1,7	1,4	1,2	1,7	1,4
<b>22:6n-3</b>	29,4	25,5	28,1	25,2	30,1	27,5
<b>Outros***</b>	3,4	2,9	2,7	4,1	2,9	2,9
<b>Σ Polinsaturados</b>	45,0	40,7	42,0	38,8	45,9	42,4
<b>Não identificados</b>	5,5	4,2	5,7	7,0	4,9	5,2
<b>Σ n-3</b>	36,9	34,0	36,3	31,5	38,5	35,6
<b>Σ n-6</b>	8,1	6,7	5,7	7,3	7,4	6,9
<b>Cholesterol (mg/100g)</b>	18,3	17,8	16,3	18,2	19,1	21,7
<b>α - Tocoferol (mg/100g)</b>	0,50	0,17	0,04	0,09	0,02	0,04

\* 15:0, 17:0, 20:0, 22:0 \*\* 17:1, 18:1n-7, 24:1n-9 \*\*\* 16:3n-3, 16:4n-3, 18:3n-3, 20:2n-6, 22:2n-6, 22:4n-6, 22:5n-6

Continuação

Tamboril-sovaco-preto						
Exemplar (Nº)	2	5	7	9	13	20
Ácidos gordos (%)						
14:0	1,1	0,9	1,6	0,7	0,8	1,1
16:0	18,0	18,7	22,1	20,0	18,0	17,3
18:0	8,0	9,5	9,5	10,1	10,5	9,4
Outros*	0,8	1,1	1,4	0,9	1,1	0,8
Σ Saturados	27,9	30,2	34,5	31,6	30,4	28,5
16:1	2,4	2,8	3,1	2,5	2,5	1,9
18:1n-9	10,4	14,1	13,4	14,8	13,3	11,3
20:1	0,9	0,4	0,9	0,6	0,4	1,3
22:1	0,4	0,0	0,3	0,6	0,3	1,2
Outros**	3,9	4,5	3,4	2,8	4,6	4,3
Σ Monoinsaturados	17,9	21,8	21,2	21,3	21,1	20,0
18:2n-6	0,8	0,8	1,0	1,0	0,8	0,8
18:4n-3	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
20:4n-6	4,3	6,5	3,8	5,9	7,3	5,3
20:4n-3	0,4	0,2	0,1	0,2	0,0	0,2
20:5n-3	6,8	5,1	6,1	3,9	3,4	4,9
22:5n-3	1,8	1,4	1,6	1,4	1,5	1,8
22:6n-3	30,4	24,6	24,7	26,0	25,8	28,2
Outros***	3,7	3,8	3,2	4,4	4,4	3,9
Σ Polinsaturados	48,3	42,5	40,7	42,9	43,3	45,3
Não identificados	5,8	5,6	3,6	4,2	5,2	6,2
Σ n-3	40,4	32,6	34,2	33,6	31,8	36,0
Σ n-6	7,9	9,9	6,5	9,3	11,5	9,3
Colesterol (mg/100g)	14,3	14,5	14,7	17,7	17,7	17,9
α - Tocoferol (mg/100g)	0,13	0,04	0,08	0,09	0,07	0,03

\* 15:0, 17:0, 20:0, 22:0 \*\* 17:1, 18:1n-7, 24:1n-9 \*\*\* 16:3n-3, 16:4n-3, 18:3n-3, 20:2n-6, 22:2n-6, 22:4n-6, 22:5n-6

Continuação

Areiro					
Exemplar (Nº)	1	2	3	4	5
<b>Ácidos gordos (%)</b>					
<b>14:0</b>	3,3	3,5	3,6	3,2	1,5
<b>16:0</b>	21,0	19,8	19,2	19,7	20,6
<b>18:0</b>	3,7	3,3	3,5	3,9	4,2
<b>Outros*</b>	0,9	0,8	0,8	0,9	0,7
<b>Σ Saturados</b>	29,0	27,4	27,1	27,8	27,0
<b>16:1</b>	6,0	8,5	7,7	5,9	5,7
<b>18:1n-9</b>	17,2	18,0	18,2	23,4	17,0
<b>20:1</b>	5,3	6,5	6,1	4,6	4,3
<b>22:1</b>	4,4	5,1	4,6	1,6	2,5
<b>Outros**</b>	4,4	4,6	4,5	5,5	4,6
<b>Σ Monoinsaturados</b>	37,3	42,6	41,0	41,0	34,2
<b>18:2n-6</b>	0,8	0,7	0,8	0,9	0,7
<b>18:4n-3</b>	0,5	0,5	0,6	0,4	0,4
<b>20:4n-6</b>	1,3	1,2	1,4	1,2	1,8
<b>20:4n-3</b>	0,4	0,3	0,4	0,4	0,4
<b>20:5n-3</b>	3,6	4,5	4,8	3,8	4,6
<b>22:5n-3</b>	1,9	2,2	2,3	2,5	2,6
<b>22:6n-3</b>	18,5	14,4	14,9	15,3	20,1
<b>Outros***</b>	2,6	2,4	2,6	3,0	2,5
<b>Σ Polinsaturados</b>	29,6	26,3	27,8	27,6	33,1
<b>Não identificados</b>	4,2	3,8	4,1	3,7	5,6
<b>Σ n-3</b>	26,1	23,0	24,0	23,6	29,0
<b>Σ n-6</b>	3,5	3,3	3,7	4,0	4,2
<b>Colesterol (mg/100g)</b>	21,5	23,1	20,1	17,9	20,3
<b>α - Tocoferol (mg/100g)</b>	-	0,99	0,64	2,61	-

\* 15:0, 17:0, 20:0, 22:0 \*\* 17:1, 18:1n-7, 24:1n-9 \*\*\* 16:3n-3, 16:4n-3, 18:3n-3, 20:2n-6, 22:2n-6, 22:4n-6, 22:5n-6

Continuação

<b>Areeiro-de-quatro-manchas</b>					
<b>Exemplar (Nº)</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>10</b>	<b>35</b>
<b>Ácidos gordos (%)</b>					
<b>14:0</b>	2,5	2,1	1,9	3,5	2,4
<b>16:0</b>	21,1	19,9	20,1	20,1	18,7
<b>18:0</b>	4,7	4,8	5,6	4,4	5,2
<b>Outros*</b>	1,4	1,4	1,6	1,1	1,6
<b>Σ Saturados</b>	29,5	28,3	29,1	29,0	28,0
<b>16:1</b>	7,1	5,0	4,6	9,5	6,2
<b>18:1n-9</b>	13,8	12,0	10,5	18,3	12,5
<b>20:1</b>	1,7	1,6	1,5	2,1	1,6
<b>22:1</b>	0,7	0,5	0,4	0,3	0,4
<b>Outros**</b>	5,3	5,0	4,9	6,0	6,2
<b>Σ Monoinsaturados</b>	28,5	24,0	22,0	36,1	26,9
<b>18:2n-6</b>	0,9	0,9	0,9	0,6	0,9
<b>18:4n-3</b>	0,2	0,2	0,1	0,1	0,3
<b>20:4n-6</b>	4,6	3,8	6,0	3,0	3,9
<b>20:4n-3</b>	0,2	0,4	0,3	0,2	0,5
<b>20:5n-3</b>	7,0	7,2	5,8	5,5	8,1
<b>22:5n-3</b>	3,0	3,0	3,1	3,0	3,0
<b>22:6n-3</b>	16,1	22,1	22,0	13,1	18,0
<b>Outros***</b>	3,1	3,7	3,8	3,3	3,7
<b>Σ Polinsaturados</b>	35,0	41,5	42,0	28,8	38,3
<b>Não identificados</b>	7,0	6,2	6,9	6,0	6,9
<b>Σ n-3</b>	27,4	34,5	32,3	23,1	31,2
<b>Σ n-6</b>	7,6	7,0	9,6	5,7	7,1
<b>Colesterol (mg/100g)</b>	24,1	27,8	19,5	25,9	22,6
<b>Exemplar (Nº)</b>	<b>1</b>	<b>40</b>	<b>41</b>	<b>47</b>	<b>48</b>
<b>α - Tocoferol (mg/100g)</b>	0,07	0,62	0,02	0,01	0,37

\* 15:0, 17:0, 20:0, 22:0 \*\* 17:1, 18:1n-7, 24:1n-9 \*\*\* 16:3n-3, 16:4n-3, 18:3n-3, 20:2n-6, 22:2n-6, 22:4n-6, 22:5n-6

Continuação

Pescada-europeia							
Exemplar (Nº)	8	10	12	19	22	23	27
Ácidos gordos (%)							
14:0	2,1	2,1	2,0	1,4	2,3	1,8	1,9
16:0	21,3	22,1	21,5	21,5	28,6	22,2	28,5
18:0	5,8	6,8	6,1	6,2	7,7	5,4	9,3
Outros*	1,2	1,4	1,3	1,2	1,3	1,0	1,2
Σ Saturados	30,3	32,4	30,8	30,3	39,8	30,4	40,9
16:1	3,8	3,3	3,6	2,5	4,1	4,2	3,6
18:1n-9	20,8	16,7	21,6	14,8	16,8	21,4	19,5
20:1	1,6	1,8	1,5	1,5	2,7	1,9	2,3
22:1	1,0	1,1	1,1	0,3	3,0	1,0	1,7
Outros**	4,7	4,0	4,3	3,8	3,7	4,8	4,1
Σ Monoinsaturados	31,9	26,9	32,0	22,9	30,2	33,3	31,2
18:2n-6	1,2	1,1	1,1	1,2	0,9	1,2	0,9
18:4n-3	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,5	0,3
20:4n-6	1,8	1,8	1,9	2,6	1,4	1,7	1,3
20:4n-3	0,4	0,4	0,4	0,4	0,1	0,4	0,3
20:5n-3	6,8	6,7	5,7	9,3	4,7	6,6	4,3
22:5n-3	0,9	1,2	1,0	0,5	0,6	0,8	0,6
22:6n-3	19,9	22,6	20,9	28,5	13,1	19,5	14,1
Outros***	1,8	1,8	1,9	1,4	1,2	1,7	1,2
Σ Polinsaturados	33,4	36,0	33,1	44,3	22,3	32,3	23,0
Não identificados	4,4	4,7	4,0	2,5	7,7	4,0	4,9
Σ n-3	29,4	32,0	29,1	39,9	19,4	28,5	20,1
Σ n-6	3,9	4,0	4,0	4,3	2,9	3,8	2,8
Exemplar (Nº)	2	3	5	6	7	12	13
Colesterol (mg/100g)	19,6	12,8	15,6	15,7	14,5	13,9	15,7
Exemplar (Nº)	17	19	26	27	31	-	-
Colesterol (mg/100g)	11,7	12,2	15,1	11,2	21,6	-	-
Exemplar (Nº)	8	10	12	22	23	-	-
α - Tocoferol (mg/100g)	0,04	0,03	0,03	0,03	0,02	-	-

\*15:0, 17:0, 20:0, 22:0 \*\* 17:1, 18:1n-7, 24:1n-9 \*\*\* 16:3n-3, 16:4n-3, 18:3n-3, 20:2n-6, 22:2n-6, 22:4n-6, 22:5n-6; # teor de gordura (%) utilizado para os cálculos (PE 8=1,7 %; PE 10=0,6 %; PE 12=1,2 %; PE 19=0,9 %; PE 23=1,2 %)

Continuação

Raias										
Exemplar (Nº)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ácidos gordos (%)										
14:0	0,7	0,5	0,6	0,4	0,6	0,4	0,7	0,4	0,7	0,4
16:0	22,5	21,4	23,8	25,1	23,9	21,3	23,3	25,7	22,0	21,0
18:0	7,3	6,9	6,7	8,8	7,8	7,2	6,1	8,8	7,9	9,3
Outros*	1,6	1,8	1,4	1,6	1,4	2,1	1,3	1,1	1,4	1,5
Σ Saturados	32,2	30,6	32,5	36,0	33,8	31,0	31,4	36,0	31,9	32,2
16:1	2,1	1,5	1,6	1,0	1,8	2,5	2,1	1,3	2,0	1,5
18:1n-9	10,4	9,8	9,8	8,4	8,3	7,7	8,4	5,5	7,0	10,5
20:1	0,9	0,5	0,9	0,7	0,8	0,5	0,9	0,6	0,6	0,9
22:1	0,4	0,8	0,4	0,3	0,5	1,0	0,6	0,2	0,2	0,1
Outros**	4,5	5,0	3,7	3,4	4,5	5,5	4,3	4,3	3,9	4,9
Σ Monoinsaturados	18,4	17,6	16,4	13,8	16,0	17,2	16,4	11,9	13,7	18,0
18:2n-6	0,9	2,6	1,0	0,8	0,7	0,7	0,7	1,0	0,9	0,8
18:4n-3	0,0	0,0	0,1	0,1	0,2	0,0	0,2	0,1	0,1	0,0
20:4n-6	4,4	5,4	3,2	2,8	3,9	7,3	3,8	4,5	3,2	3,6
20:4n-3	0,2	0,0	0,3	0,3	0,4	0,0	0,4	0,4	0,5	0,3
20:5n-3	4,9	5,4	3,3	2,0	4,9	4,2	6,4	4,8	5,1	3,8
22:5n-3	2,9	2,6	2,6	2,4	3,9	3,8	3,6	3,0	3,3	3,2
22:6n-3	29,0	28,7	33,9	34,7	28,6	27,2	27,4	29,2	32,5	29,0
Outros***	3,7	4,3	3,9	3,5	3,2	3,8	3,7	3,9	3,7	3,9
Σ Polinsaturados	45,9	49,0	48,4	46,6	45,9	47,0	46,3	46,9	49,5	44,6
Não identificados	3,5	2,8	2,7	3,6	4,4	4,8	5,9	5,2	4,9	5,2
Σ n-3	38,3	38,2	41,6	40,7	39,3	35,8	39,7	39,5	43,4	37,8
Σ n-6	7,6	10,7	6,8	5,8	6,6	11,2	6,6	7,4	6,1	6,7
Coolesterol (mg/100g)	23,5	23,5	19,2	17,9	18,3	22,6	23,7	18,7	20,5	21,7
α - Tocoferol (mg/100g)	0,05	0,03	0,08	0,06	0,09	0,10	0,09	0,03	0,06	0,03

\* 15:0, 17:0, 20:0, 22:0 \*\* 17:1, 18:1n-7, 24:1n-9 \*\*\* 16:3n-3, 16:4n-3, 18:3n-3, 20:2n-6, 22:2n-6, 22:4n-6, 22:5n-6



**Quadro IV** - Teor de macroelementos, expresso em mg/kg, determinados nos tecidos das espécies estudadas.

Espécie <sup>#</sup>	Exemplar (Nº)	K		Na	Cl		S		Mg	Ca	
		Músculo	Fígado	Músculo	Músculo	Fígado	Músculo	Fígado	Músculo	Músculo	Fígado
<b>PEP</b> ( <i>Aphanopus carbo</i> )	2	2879	3009	1505	865	2010	1054	2296	284	76	228
	5	2974	2580	1519	911	2735	747	2170	299	87	179
	23	3038	3184	1076	890	2891	831	2584	293	79	287
	26	2153	1993	2737	1637	3331	1188	2125	291	108	886
	33	3000	2012	1090	1201	3493	1697	2065	275	117	166
	36	2953	2526	1460	1139	3805	1398	2180	278	107	170
	42	3028	2271	1678	1331	3259	1517	2221	285	194	159
	46	2626	2110	1038	1270	2335	1071	1916	253	115	287
	49	4326	2101	1693	1573	1971	1718	1946	246	157	114
	50	2680	-	1891	1361	-	1194	-	295	144	-
Média±Desvio padrão		2966±550	2421±438	1568±502	1218±273	2870±660	1242±336	2167±199	280±18	119±37	275±236
Mediana		2963,00	2271,00	1512	1236	2891	1191	2170,00	284	112	179
Mínimo-Máximo		2153-4326	1993-3184	1038-2737	865-1637	1971-3805	747-1718	1916-2584	246-299	76-179	114-886
<b>PEB</b> ( <i>Lepidopus caudatus</i> )	1	3344	-	1256	1801	-	1064	-	229	113	-
	2	3596	-	1406	1936	-	1443	-	299	104	-
	3	3089	-	1269	1344	-	1132	-	218	82	-
	4	3828	-	817	675	-	1312	-	261	77	-
	5	3673	-	901	1096	-	1223	-	259	62	-
	6	4180	-	885	1297	-	1579	-	242	92	-
	7	3532	-	610	772	-	1296	-	256	72	-
	8	3917	-	841	955	-	1421	-	238	72	-
	9	3497	-	602	769	-	971	-	227	69	-
	10	3722	-	697	666	-	1449	-	249	82	-
Média±Desvio padrão		3638±305	-	929±286	1131±458	-	1289±192	-	248±23	82±16	-
Mediana		3635	-	863	1026	-	1304	-	245	80	-
Mínimo-Máximo		3089-4180	-	602-1406	666-1936	-	971-1579	-	218-299	62-113	-

Continuação

Espécie <sup>#</sup>	Exemplar (Nº)	K		Na	Cl		S		Mg	Ca	
		Músculo	Fígado	Músculo	Músculo	Fígado	Músculo	Fígado	Músculo	Músculo	Fígado
<b>TA</b> ( <i>Lophius piscatorius</i> )	1	2548	1443	1588	873	1266	1054	< LD	272	78	109
	3	2677	1445	1781	1212	1120	1362	< LD	285	159	112
	5	2184	1094	2264	1445	1138	1241	< LD	276	78	106
	6	2233	986	2279	1504	1216	1273	< LD	265	90	72
	9	2767	1014	1731	905	1448	1060	< LD	240	80	92
	10	2987	1031	2122	1232	1052	1332	< LD	241	70	41
Média±Desvio padrão		2566±312	1169±216	1961±297	1195±263	1207±140	1220±134	-	263±19	93±33	89±28
Mediana		2612	1062	1951	1222	1177	1257	-	269	79	99
Mínimo-Máximo		2184-2987	986-1445	1588-2279	873-1504	1052-1448	1054-1362	-	240-285	70-159	41-112
<b>TSP</b> ( <i>Lophius budegassa</i> )	2	3025	1482	1247	912	1247	1481	< LD	301	73	76
	5	3131	834	1503	1204	1503	1452	< LD	303	118	105
	7	3336	-	-	1037	-	1543	-	203	114	-
	9	3117	-	-	1245	-	1471	-	216	92	-
	13	2639	987	1624	1592	1624	1387	< LD	306	108	121
	20	2600	1141	2218	1293	2218	936	< LD	312	84	112
Média±Desvio padrão		2975±294	1111±277	1648±411	1214±234	1648±411	1378±223	-	273±50	98±18	104±19
Mediana		3071	1064	1564	1225	1564	1461	-	302	100	108
Mínimo-Máximo		2600-3336	834-1482	1247-2218	912-1592	1247-2218	936-1543	-	203-312	73-118	76-121
<b>ARE</b> ( <i>L. whiffiagonis</i> )	1	3234	-	-	1082	-	1842	-	380	159	-
	2	2244	-	1413	935	-	1268	-	366	167	-
	3	2932	-	1369	915	-	1425	-	368	128	-
	4	2581	-	1990	1199	-	1619	-	412	120	-
	5	2849	-	1420	1517	-	1452	-	351	133	-
Média±Desvio padrão		2768±375	-	1548±296	1129±245	-	1521±218	-	375±23	142±21	-
Mediana		2849	-	1416	1082	-	1452	-	368	133	-
Mínimo-Máximo		2244-3234	-	1369-1990	915-1517	-	1268-1842	-	351-412	120-167	-

Continuação

Espécie <sup>#</sup>	Exemplar (Nº)	K	Na	Cl	S	Mg	Ca
		Músculo	Músculo	Músculo	Músculo	Músculo	Músculo
<b>AQM</b> ( <i>L. boscii</i> )	1	-	1947	-	-	469	-
	2	2917	2303	2189	2001	454	283
	3	-	1546	-	-	406	-
	4	-	1980	-	-	407	-
	5	-	2313	-	-	446	-
	35	2605	-	1538	1697	-	390
	40	2540	-	1632	2013	-	629
	41	2773	-	1484	2044	-	634
	42	2434	-	1738	1364	-	418
	47	2538	-	984	1579	-	162
	48	2982	-	1259	1921	-	199
Média±Desvio padrão		2684±209	2018±315	1546±379	1803±261	436±29	388±190
Mediana		2605	1980	1538	1921	446	390
Mínimo-Máximo		2434-2982	1546-2313	984-2189	1364-2044	406-469	162-634
<b>PE</b> ( <i>M. merluccius</i> )	3	3179	1650	1288	1354	345	230
	4	3536	2602	1616	1408	353	742
	8	3741	2462	1295	1761	387	116
	10	3825	2128	1774	1514	379	144
	12	3296	1677	799	1402	367	109
	19	3518	2199	1475	1607	326	167
	22	3776	1920	641	1231	320	85
	23	3385	2193	1013	1616	380	127
	27	3572	2366	1110	1367	383	113
	31	3278	2675	2320	1370	419	313
Média±Desvio padrão		3511±224	2187±356	1333±493	1463±158	366±31	215±197
Mediana		3527	2196	1292	1405	373	136
Mínimo-Máximo		3179-3825	1650-2196	641-2320	1231-1761	320-419	85-742

Continuação

Espécie <sup>#</sup>	Exemplar (Nº)	K	Na	Cl	S	Mg	Ca
		Músculo	Músculo	Músculo	Músculo	Músculo	Músculo
<b>RA</b> ( <i>Raja spp</i> )	1	2882	1461	1521	2045	253	265
	2	3189	1504	1905	2030	260	182
	3	3271	944	1332	2491	271	212
	4	3086	1427	1545	2392	286	132
	5	3779	956	1311	1889	275	105
	6	3315	1540	2012	2126	303	105
	7	3175	1125	1417	1978	251	108
	8	3098	1993	2201	1685	253	133
	9	3496	1118	1198	1813	248	101
	10	3317	876	971	1602	260	98
Média±Desvio padrão		3261±246	1295±351	1541±387	2005±283	266±18	144±57
Mediana		3230	1276	1469	2004	260	120
Mínimo-Máximo		2882-3779	876-1993	971-2201	1602-2491	248-303	98-265

#: PEP - peixe-espada-preto; PEB - peixe-espada-branco; TA – tamboril; TSP - tamboril-sovaco-preto; ARE – areeiro;  
 AQM - areeiro-de-quatro-manchas; PE - pescada-europeia; RA - raias;

**Quadro V** - Teor de microelementos, expresso em mg/kg, nos tecidos das espécies estudadas

Espécie / Tecido	Exemplar (Nº)	Zn		Cu		Fe		Mn		Se	
		Músculo	Fígado	Músculo	Fígado	Músculo	Fígado	Músculo	Fígado	Músculo	Fígado
<b>Peixe-espada-preto</b> ( <i>Aphanopus carbo</i> )	2	3,1	57	0,14	10	1,3	246	0,17	2,1	0,39	3,1
	5	2,7	103	0,11	14	0,8	276	0,15	2,5	0,43	3,4
	23	2,1	86	0,12	11	1,4	331	0,15	2,6	0,36	3,1
	26	2,2	77	0,11	7,6	1,3	526	0,14	2,0	0,49	4,4
	33	2,9	67	0,14	14	1,9	112	0,13	2,1	0,44	2,8
	36	2,7	131	0,12	20	1,9	184	0,13	2,8	0,48	4,0
	42	2,9	78	0,13	24	1,1	157	0,14	2,2	0,40	3,4
	46	2,7	54	0,12	17	1,4	536	0,16	2,7	0,49	4,7
	49	5,0	111	0,13	5,8	2,2	447	0,14	2,4	0,81	5,8
	50	3,0	-	0,24	-	1,6	-	0,15	-	0,33	-
Média±Desvio padrão		2,9±0,8	85±26	0,14±0,04	14±5,9	1,5±0,4	313±158	0,15±0,01	2,4±0,3	0,46±0,13	3,9±1,0
Mediana		2,8	78	0,13	14	1,4	276	0,14	2,4	0,44	3,4
Mínimo-Máximo		2,1-5,0	54-131	0,11-0,24	5,8-24	0,8-2,2	112-536	0,13-0,17	2,0-2,8	0,33-0,81	2,8-5,8
<b>Peixe-espada-branco</b> ( <i>Lepidopus caudatus</i> )	1	2,7	-	0,09	-	2,6	-	0,31	-	0,39	-
	2	3,0	-	0,14	-	2,5	-	0,25	-	0,36	-
	3	2,8	-	0,15	-	2,4	-	0,24	-	0,29	-
	4	2,9	-	0,17	-	2,0	-	0,22	-	0,57	-
	5	2,4	-	0,12	-	1,9	-	0,23	-	0,27	-
	6	2,7	-	0,05	-	2,4	-	0,22	-	0,23	-
	7	2,7	-	0,18	-	2,2	-	0,25	-	0,40	-
	8	3,1	-	0,15	-	2,6	-	0,28	-	0,53	-
	9	3,1	-	0,16	-	2,7	-	0,21	-	0,33	-
	10	2,6	-	0,11	-	2,6	-	0,27	-	0,37	-
Média±Desvio padrão		2,8±0,2		0,13±0,04		2,4±0,3		0,25±0,03		0,37±0,11	
Mediana		2,7		0,14		2,4		0,24		0,37	
Mínimo-Máximo		2,4-3,1		0,05-0,18		1,9-2,7		0,21-0,31		0,23-0,57	

Continuação

Espécie / Tecido	Exemplar (Nº)	Zn		Cu		Fe		Mn		Se	
		Músculo	Fígado	Músculo	Fígado	Músculo	Fígado	Músculo	Fígado	Músculo	Fígado
<b>Tamboril</b> ( <i>Lophius piscatorius</i> )	1	4,2	18	0,16	8,1	1,5	21	0,14	< LD	0,36	1,5
	3	4,5	17	0,20	8,8	2,5	21	0,17	< LD	0,28	1,4
	5	5,7	9,1	0,27	3,4	1,6	7,8	0,07	< LD	0,21	0,76
	6	5,7	11	0,38	5,6	2,3	17	0,10	< LD	0,26	0,71
	9	4,0	19	0,22	14	1,9	23	0,05	< LD	0,25	1,0
	10	4,6	23	0,22	37	2,1	24	0,06	< LD	0,31	1,8
Média±Desvio padrão		4,8±0,8	16±5,3	0,24±0,08	13±12	2,0±0,4	19±5,9	0,10±0,05		0,28±0,05	1,2±0,4
Mediana		4,5	18	0,22	8,5	2,0	21	0,08		0,27	1,2
Mínimo-Máximo		4,0-5,7	9,1-23	0,16-0,38	3,4-37	1,5-2,5	7,8-24	0,05-0,17		0,21-0,36	0,71-1,8
<b>Tamboril-sovaco-preto</b> ( <i>Lophius budegassa</i> )	2	4,7	18	0,26	12	1,5	26	0,21	< LD	0,90	1,7
	5	4,4	15	0,23	15	2,0	21	0,16	< LD	0,67	0,7
	7	4,5	-	0,34	-	1,6	-	0,21	< LD	0,63	-
	9	4,1	-	0,39	-	2,2	-	0,15	< LD	0,50	-
	13	3,9	48	0,21	67	3,0	130	0,38	< LD	0,42	1,9
	20	3,2	25	0,22	93	2,5	50	0,10	< LD	0,60	2,7
Média±Desvio padrão		4,2±0,5	26±15	0,27±0,07	47±40	2,2±0,6	57±50	0,20±0,10		0,62±0,16	1,8±0,8
Mediana		4,3	21	0,24	41	2,1	38	0,19		0,61	1,8
Mínimo-Máximo		3,2-4,7	15-48	0,21-0,39	12-93	1,5-3,0	21-130	0,10-0,38		0,42-0,90	0,7-2,7
<b>Areeiro</b> ( <i>L. whiffiagonis</i> )	1	3,31	-	0,13	-	1,71	-	0,06	-	0,44	-
	2	3,9	-	0,18	-	1,6	-	0,06	-	0,34	-
	3	3,4	-	0,12	-	1,1	-	0,04	-	0,47	-
	4	3,2	-	0,11	-	1,4	-	0,09	-	0,24	-
	5	3,4	-	0,10	-	1,5	-	0,10	-	0,30	-
Média±Desvio padrão		3,4±0,3		0,13±0,03		1,5±0,2		0,07±0,03		0,36±0,09	
Mediana		3,4		0,12		1,5		0,06		0,34	
Mínimo-Máximo		3,2-3,9		0,10-0,18		1,1-1,7		0,04-0,10		0,24-0,47	

Continuação

Espécie / Tecido	Exemplar (Nº)	Zn	Cu	Fe	Mn	Se
		Músculo	Músculo	Músculo	Músculo	Músculo
Areeiro-de-quatro-manchas ( <i>L. boscii</i> )	1		0,19	-	0,16	-
	2	5,3	0,24	2,8	0,14	0,42
	3	-	0,23	-	0,11	-
	4	-	0,15	-	0,09	-
	5	-	0,23	-	0,05	-
	10	-	-	-	-	-
	35	3,5	-	2,4	-	0,39
	40	3,7	-	3,5	-	0,57
	41	3,3	-	2,2	-	0,41
	42	3,8	-	2,4	-	0,39
	47	3,6	-	1,9	-	0,52
	48	3,7	-	2,2	-	0,42
Média±Desvio padrão		3,8±0,6	0,21±0,04	2,5±0,5	0,11±0,04	0,45±0,07
Mediana		3,7	0,23	2,4	0,11	0,42
Mínimo-Máximo		3,3-5,3	0,15-0,24	1,9-3,5	0,05-0,16	0,39-0,57

Continuação

Espécie	Exemplar (Nº)	Zn	Cu	Fe	Mn	Se
		Músculo	Músculo	Músculo	Músculo	Músculo
<b>Pescada-europeia</b> ( <i>Merluccius merluccius</i> )	3	3,6	0,31	6,8	0,27	0,26
	4	3,2	0,24	5,4	0,19	0,18
	8	3,4	0,26	2,6	0,04	0,36
	10	3,7	0,42	4,6	0,04	0,22
	12	3,2	0,31	2,3	0,06	0,39
	19	3,1	0,26	2,3	0,04	0,29
	22	2,7	0,21	1,6	0,04	0,31
	23	3,5	0,39	1,6	0,11	0,30
	27	2,9	0,33	1,4	0,07	0,23
	31	4,2	0,37	10	0,30	0,33
		3,4±0,42	0,31±0,07	3,9±2,9	0,12±0,10	0,29±0,07
Média±Desvio padrão						
Mediana		3,3	0,31	2,4	0,06	0,30
Mínimo-Máximo		2,7-4,2	0,21-0,42	1,4-10	0,04-0,30	0,18-0,39
<b>Raias</b> ( <i>Raja spp</i> )	1	4,1	0,25	3,2	0,37	0,20
	2	3,8	0,12	3,0	0,26	0,26
	3	3,5	0,10	2,4	0,19	0,26
	4	3,8	0,15	2,1	0,22	0,45
	5	4,0	0,23	2,6	0,15	0,21
	6	4,7	0,13	3,4	0,25	0,36
	7	4,0	0,21	3,2	0,25	0,25
	8	4,0	0,16	3,6	0,22	0,24
	9	4,1	0,19	2,5	0,30	0,32
	10	4,1	0,15	2,1	0,21	0,33
		4,0±0,3	0,17±0,05	2,8±0,5	0,24±0,06	0,29±0,08
Média±Desvio padrão						
Mediana		4,0	0,16	2,8	0,23	0,26
Mínimo-Máximo		3,5-4,7	0,10-0,25	2,1-3,6	0,15-0,37	0,20-0,45



**Quadro VI** - Teor de mercúrio total ( $Hg_T$ ) e orgânico ( $Hg_{Org}$ ) nos tecidos das espécies estudadas.

Espécie	Exemplar (Nº)	$Hg_T$ (mg/kg)	$Hg_{Org}$ (mg/kg)	$Hg_{Org}$ (%)	$Hg_T$ (mg/kg)	$Hg_{Org}$ (mg/kg)	$Hg_{Org}$ (%)
		Músculo			Fígado		
<b>Peixe-espada-preto</b> ( <i>Aphanopus carbo</i> )	1	0,49	-	-	0,42	-	-
	2	0,56	0,47	83	0,12	0,05	41
	3	0,58	-	-	1,26	-	-
	4	0,72	-	-	1,29	-	-
	5	0,49	0,41	84	0,52	0,15	28
	6	0,72	-	-	1,38	-	-
	7	0,58	-	-	1,56	-	-
	8	0,38	-	-	1,22	-	-
	9	0,60	-	-	1,24	-	-
	10	1,02	-	-	3,96	-	-
	11	0,42	-	-	0,80	-	-
	12	0,78	-	-	1,83	-	-
	13	0,85	-	-	1,64	-	-
	14	0,58	-	-	1,89	-	-
	15	0,35	-	-	1,22	-	-
	16	0,52	-	-	2,36	-	-
	17	0,72	-	-	1,74	-	-
	18	0,47	-	-	1,28	-	-
	19	0,51	-	-	0,71	-	-
	20	0,61	-	-	1,96	-	-
	21	0,81	-	-	3,37	-	-
	22	0,87	-	-	1,87	-	-
	23	0,80	0,79	100	0,83	0,35	42
	24	1,00	-	-	0,91	-	-
	25	0,94	-	-	1,77	-	-
	26	1,28	1,17	91	3,60	1,18	33
	27	0,93	-	-	2,41	-	-
	28	0,61	-	-	1,84	-	-
	29	0,57	-	-	1,57	-	-
	30	0,41	-	-	0,56	-	-
	31	0,42	-	-	0,44	-	-
	32	0,40	-	-	0,50	-	-
	33	0,14	0,13	90	0,11	0,04	31
	34	0,54	-	-	1,07	-	-
	35	0,31	-	-	0,14	-	-
	36	0,50	0,48	95	0,20	0,08	41
	37	0,94	-	-	1,64	-	-
	38	0,66	-	-	0,38	-	-
	39	0,39	-	-	0,85	-	-
	40	0,61	-	-	1,00	-	-
	41	1,75	-	-	1,61	-	-
	42	0,35	0,32	90	0,73	0,26	35
	43	0,38	-	-	0,72	-	-
	44	0,58	-	-	0,92	-	-
	45	0,61	-	-	0,94	-	-
	46	0,76	0,72	95	2,96	1,08	37
	47	0,76	-	-	2,07	-	-
	48	0,71	-	-	0,83	-	-
	49	0,30	0,28	91	0,77	0,15	19
	50	0,36	0,32	87	0,38	0,17	44
Média±Desvio padrão		0,63±0,27	0,51±0,31	91±5	1,31±0,88	0,35±0,42	35±8
Mediana		0,58	0,44	91	1,22	0,16	36
Mínimo-Máximo		0,14-1,75	0,13-1,17	83-100	0,11-3,96	0,04-1,18	19-44

Continuação

Espécie	Exemplar (Nº)	Hg <sub>T</sub> (mg/kg)	Hg <sub>Org</sub> (mg/kg)	Hg <sub>Org</sub> (%)	Hg <sub>T</sub> (mg/kg)	Hg <sub>Org</sub> (mg/kg)	Hg <sub>Org</sub> (%)
		Músculo			Fígado		
<b>Peixe-espada-branco</b> ( <i>Lepidopus caudatus</i> )	1	0,49	0,40	82	-	-	-
	2	0,44	0,42	96	-	-	-
	3	0,49	0,42	85	-	-	-
	4	0,09	0,08	86	-	-	-
	5	0,31	0,26	85	-	-	-
	6	0,17	0,15	89	-	-	-
	7	1,01	0,93	93	-	-	-
	8	0,69	0,60	87	-	-	-
	9	1,13	0,91	80	-	-	-
	10	0,57	0,46	82	-	-	-
Média±Desvio padrão		0,54±0,33	0,46±0,29	86±5			
Mediana		0,49	0,42	86			
Mínimo-Máximo		0,09-1,13	0,08-0,93	80-96			
<b>Tamboril</b> ( <i>Lophius piscatorius</i> )	1	0,61	0,54	89	0,14	0,11	76
	2	0,78	-	-	0,44	-	-
	3	0,27	0,24	92	0,12	0,11	88
	4	0,21	-	-	0,12	-	-
	5	0,065	0,06	90	0,18	0,15	84
	6	0,17	0,13	77	0,26	0,24	89
	7	0,44	-	-	0,45	-	-
	8	0,28	-	-	0,58	-	-
	9	0,15	0,13	86	0,20	0,17	86
	10	0,14	0,13	90	0,24	0,16	69
	11	0,35	-	-	0,47	-	-
	12	0,52	-	-	0,68	-	-
Média±Desvio padrão		0,33±0,22	0,21±0,18	87±6	0,32±0,19	0,16±0,05	82±8
Mediana		0,27	0,13	90	0,25	0,16	85
Mínimo-Máximo		0,06-0,78	0,06-0,54	77-92	0,12-0,68	0,11-0,24	69-89
<b>Tamboril-sovaco-preto</b> ( <i>Lophius budegassa</i> )	1	0,49	-	-	0,13	-	-
	2	0,16	0,13	80	0,04	0,03	80
	3	0,30	-	-	0,04	-	-
	4	0,16	-	-	0,06	-	-
	5	1,20	1,15	96	0,04	0,03	79
	6	0,56	-	-	0,16	-	-
	7	0,21	0,19	88	0,05	-	-
	8	0,21	-	-	0,35	-	-
	9	1,51	1,43	95	0,34	-	-
	10	0,73	-	-	0,21	-	-
	11	0,54	-	-	0,24	-	-
	12	0,36	-	-	0,09	-	-
	13	0,68	0,63	92	0,29	0,21	72
	14	0,30	-	-	0,07	-	-
	15	0,27	-	-	0,07	-	-
	16	0,28	-	-	0,05	-	-
	17	0,42	-	-	0,07	-	-
	18	0,11	-	-	0,17	-	-
	19	0,93	-	-	0,31	-	-
	20	0,32	0,28	89	0,23	0,15	64
	21	0,32	-	-	0,15	-	-
Média±Desvio padrão		0,48±0,36	0,63±0,54	90±6	0,15±0,11	0,10±0,09	74±7
Mediana		0,32	0,45	91	0,13	0,09	75
Mínimo-Máximo		0,11-1,51	0,13-1,43	80-96	0,04-0,35	0,03-0,21	64-80

Continuação

Espécie	Exemplar (Nº)	Hg <sub>r</sub> (mg/kg)	Hg <sub>Org</sub> (mg/kg)	Hg <sub>Org</sub> (%)
		Músculo		
<b>Areeiro</b> ( <i>Lepidorhombus whiffiagonis</i> )	1	0,17	0,15	88
	2	0,22	0,20	91
	3	0,52	0,47	91
	4	0,64	0,59	91
	5	0,44	0,39	90
Média±Desvio padrão		0,40±0,20	0,36±0,18	90±1
Mediana		0,44	0,39	91
Mínimo-Máximo		0,17-0,64	0,15-0,59	88-91
<b>Areeiro-de-quatro-manchas</b> ( <i>Lepidorhombus boscii</i> )	1	0,23	0,22	97
	2	0,11	0,08	74
	6	0,30	-	-
	7	0,32	-	-
	8	0,19	-	-
	9	0,26	-	-
	10	0,31	-	-
	11	0,21	-	-
	12	0,24	-	-
	13	0,28	-	-
	14	0,14	-	-
	15	0,22	-	-
	16	0,56	-	-
	17	0,30	-	-
	18	0,36	-	-
	19	0,18	-	-
	20	0,26	-	-
	21	0,10	-	-
	22	0,25	-	-
	23	0,37	-	-
	24	0,10	-	-
	25	0,33	-	-
	26	0,12	-	-
	27	0,24	-	-
	28	0,16	-	-
	29	0,22	-	-
	30	0,18	-	-
	31	0,15	-	-
	32	0,19	-	-
	33	0,13	-	-
	34	0,17	-	-
	35	0,13	0,12	94
	36	0,14	-	-
	37	0,23	-	-
	38	0,15	-	-
	39	0,13	-	-
	40	0,68	0,68	100
	41	0,28	0,28	100
	42	0,77	0,77	99
	43	0,59	-	-
	44	0,32	-	-
	45	1,22	-	-
	46	0,38	-	-
	47	0,75	0,63	84
	48	0,71	0,54	77
	49	0,50	-	-

## Continuação

Espécie	Exemplar (Nº)	Hg <sub>T</sub> (mg/kg)	Hg <sub>Org</sub> (mg/kg)	Hg <sub>Org</sub> (%)
		Músculo		
<b>Areeiro-de-quatro-manchas</b> ( <i>Lepidorhombus boscii</i> )	50	0,91	-	-
	51	0,66	-	-
		0,33±0,24 0,25 0,10-1,22	0,42±0,27 0,41 0,08-0,77	91±11 95 74-100
<b>Pescada-europeia</b> ( <i>Merluccius merluccius</i> )	1	0,07	-	-
	2	0,08	-	-
	3	0,06	0,05	90
	4	0,07	0,06	81
	5	0,13	-	-
	6	0,41	-	-
	7	0,25	-	-
	8	0,28	0,23	82
	9	0,32	-	-
	10	0,14	0,13	91
	11	0,13	-	-
	12	0,21	0,17	83
	13	0,06	-	-
	14	0,12	-	-
	15	0,14	-	-
	16	0,17	-	-
	17	0,05	-	-
	18	0,22	-	-
	19	0,22	0,19	85
	20	0,36	-	-
	21	0,30	-	-
	22	0,61	0,60	99
	23	0,54	0,51	95
	24	0,53	-	-
	25	0,39	-	-
	26	0,26	-	-
	27	0,30	0,30	99
	28	0,03	-	-
	29	0,03	-	-
	30	0,04	-	-
	31	0,06	0,05	78
Média±Desvio padrão		0,21±0,16	0,23±0,19	88±8
Mediana		0,17	0,18	88
Mínimo-Máximo		0,03-0,61	0,05-0,60	78-99
<b>Raias</b> ( <i>Raja spp</i> )	1	0,24	0,19	80
	2	0,09	-	-
	3	0,91	0,79	87
	4	0,24	0,19	81
	5	0,21	0,18	87
	6	0,22	0,18	81
	7	0,13	0,10	77
	8	0,22	0,18	81
	9	0,06	0,05	73
	10	0,11	0,08	75
Média±Desvio padrão		0,24±0,24	0,21±0,22	80±5
Mediana		0,21	0,18	81
Mínimo-Máximo		0,06-0,91	0,05-0,79	73-87

**Quadro VII** - Teor de cádmio, chumbo e arsênio, expresso em mg/kg, nos tecidos das espécies estudadas.

Espécie	Exemplar (Nº)	Cd		Pb		As	
		Músculo	Fígado	Músculo	Fígado	Músculo	Fígado
<b>Peixe-espada-preto</b> ( <i>Aphanopus carbo</i> )	2	0,009	4,0	0,01	0,10	4,3	17,0
	5	0,007	5,1	0,01	0,12	2,1	5,9
	23	0,009	3,4	0,02	0,02	1,9	4,7
	26	0,011	3,1	0,01	0,02	1,7	2,9
	33	0,022	3,3	0,01	0,07	2,9	6,6
	36	0,016	6,3	0,01	0,07	2,6	6,0
	42	0,025	3,2	0,01	0,07	3,1	9,3
	46	0,012	1,2	0,01	0,03	2,4	4,2
	49	0,008	2,1	0,01	0,07	4,8	7,5
	50	0,014	-	0,01	-	3,0	-
Média±Desvio padrão		0,013±0,006	3,53±1,50	0,01±0,00	0,06±0,03	2,9±1,0	7,1±4,2
Mediana		0,011	3,31	0,01	0,07	2,8	6,0
Mínimo-Máximo		0,007-0,025	1,23-6,27	0,01-0,02	0,02-0,12	1,7-4,8	2,9-17,0
<b>Peixe-espada-branco</b> ( <i>Lepidopus caudatus</i> )	1	0,004	-	0,01	-	2,15	-
	2	0,003	-	0,01	-	1,77	-
	3	0,005	-	0,02	-	1,23	-
	4	0,003	-	0,01	-	2,32	-
	5	0,005	-	0,03	-	2,12	-
	6	0,002	-	0,02	-	2,03	-
	7	0,002	-	0,02	-	3,55	-
	8	0,002	-	0,02	-	3,06	-
	9	0,002	-	0,01	-	2,52	-
	10	0,001	-	0,02	-	3,01	-
Média±Desvio padrão		0,003±0,001	-	0,02±0,00	-	2,4±0,7	-
Mediana		0,002	-	0,02	-	2,2	-
Mínimo-Máximo		0,001-0,005	-	0,01-0,03	-	1,2-3,5	-
<b>Tamboril</b> ( <i>Lophius piscatorius</i> )	1	0,001	0,13	0,02	0,06	17,2	7,3
	3	0,002	0,05	0,02	0,05	12,2	6,7
	5	0,002	0,07	0,02	0,05	4,4	7,4
	6	0,003	0,08	0,03	0,04	9,4	10
	9	0,002	0,10	0,01	0,05	8,4	8,2
	10	0,001	0,56	0,02	0,06	10,4	8,7
Média±Desvio padrão		0,002±0,001	0,16±0,20	0,02±0,01	0,05±0,01	10,3±4,2	8,1±1,2
Mediana		0,002	0,09	0,02	0,05	9,9	7,8
Mínimo-Máximo		0,001-0,003	0,05-0,56	0,01-0,02	0,04-0,06	4,4-17,2	6,7-10
<b>Tamboril-sovaco-preto</b> ( <i>Lophius budegassa</i> )	2	0,002	0,07	0,03	0,04	9,1	8,6
	5	0,001	0,08	0,02	0,08	20	6,8
	7	0,001	-	0,02	-	7,7	-
	9	0,001	-	0,01	-	7,1	-
	13	0,003	0,40	0,02	0,23	15	7,7
	20	0,003	0,45	0,03	0,10	11	8,9
Média±Desvio padrão		0,002±0,001	0,25±0,21	0,02±0,01	0,11±0,08	11,7±5,1	8,0±0,9
Mediana		0,002	0,24	0,02	0,09	10	8,2
Mínimo-Máximo		0,001-0,003	0,07-0,45	0,01-0,03	0,04-0,23	7,1-20	6,8-8,9

## Continuação

Espécie	Exemplar (Nº)	Cd		Pb		As
		Músculo	Fígado	Músculo	Fígado	Músculo
<b>Areiro</b> ( <i>Lepidorhombus whiffiagonis</i> )	1	-	-	-	-	8,2
	2	0,003	-	0,04	-	7,6
	3	0,002	-	0,02	-	21
	4	0,001	-	0,03	-	11
	5	0,002	-	0,035	-	18
Média±Desvio padrão		0,002±0,001		0,03±0,01		13,2±6,3
Mediana		0,002		0,03		10,5
Mínimo-Máximo		0,001-0,003		0,02-0,04		7,6-21,4
<b>Areiro-de-quatro-manchas</b> ( <i>Lepidorhombus bosci</i> )	1	0,002	-	0,063	-	-
	2	-	-	-	-	8,9
	35	0,003	-	0,03	-	10
	40	0,003	-	0,03	-	16
	41	0,004	-	0,03	-	6,4
	42	0,005	-	0,03	-	7,2
	47	0,004	-	0,04	-	14
	48	0,003	-	0,03	-	11
Média±desvio padrão		0,003±0,001		0,04±0,01		10,5±3,4
Mediana		0,003		0,030		10,0
Mínimo-Máximo		0,002-0,005		0,03-0,06		6,4-16
<b>Pescada-europeia</b> ( <i>Merluccius merluccius</i> )	3	0,016	-	0,06	-	5,6
	4	0,014	-	0,08	-	8,0
	8	0,006	-	0,04	-	8,2
	10	0,009	-	0,07	-	5,9
	12	0,008	-	0,05	-	5,5
	19	0,010	-	0,05	-	8,5
	22	0,010	-	0,06	-	6,3
	23	0,009	-	0,06	-	4,7
	25	0,011	-	0,06	-	-
	27	0,010	-	0,07	-	8,4
	31	0,018	-	0,06	-	5,9
Média±Desvio padrão		0,011±0,004		0,06±0,01		6,7±1,4
Mediana		0,01		0,060		6,1
Mínimo-Máximo		0,006-0,018		0,04-0,08		4,7-8,5
<b>Raias</b> ( <i>Raja spp</i> )	1	0,009	-	0,03	-	36
	2	0,004	-	0,05	-	36
	3	0,007	-	0,02	-	15
	4	0,007	-	0,02	-	26
	5	0,006	-	0,02	-	44
	6	0,003	-	0,05	-	37
	7	0,006	0,66	0,03	0,03	27
	8	0,004	1,49	0,02	0,05	46
	9	0,004	0,46	0,01	0,01	13
	10	0,009	1,44	0,01	0,001	29
Média±Desvio padrão		0,006±0,002	1,01±0,53	0,03±0,02	0,02±0,02	31±11
Mediana		0,006	1,05	0,03	0,02	33,0
Mínimo-Máximo		0,003-0,009	0,46-1,49	0,01-0,05	0,001-0,05	13-46